

**Die Bedeutung von Komplement und Blutzellen
für die hyperakute xenogene
Abstoßungsreaktion (HXAR)**

Josef Aldenhoff

1974

Aus dem Institut für chirurgische Forschung
(Prof. Dr.Dr.h.c. W. Brendel)
an der Chirurgischen Klinik der Universität München
(Prof. Dr. G. Heberer)

Die Bedeutung von Komplement und Blutzellen für die
hyperakute xenogene Abstoßungsreaktion (HXAR)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Josef Aldenhoff
aus
Dresden

Mit Genehmigung der Chirurgischen Universität
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. W. Brendel

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 10.9.1974



1	Einleitung	1
2	Aufgaben	2
2.1	Mathematik	2
2.2	Physik	3
2.3	Chemie	4
2.4	Biologie	5
2.5	Geographie	6
2.6	Historie	7
2.7	Politik	8
2.8	Recht	9
2.9	Wirtschaftswissenschaften	10
2.10	Sozialwissenschaften	11
2.11	Kunst	12
2.12	Sport	13
2.13	Technik	14
2.14	Medizin	15
2.15	Psychologie	16
2.16	Philosophie	17
2.17	Religion	18
2.18	Interdisziplinäre Aufgaben	19
3	Ergebnisse	20
3.1	Mathematik	20
3.2	Physik	21
3.3	Chemie	22
3.4	Biologie	23
3.5	Geographie	24
3.6	Historie	25
3.7	Politik	26
3.8	Recht	27
3.9	Wirtschaftswissenschaften	28
3.10	Sozialwissenschaften	29
3.11	Kunst	30
3.12	Sport	31
3.13	Technik	32
3.14	Medizin	33
3.15	Psychologie	34
3.16	Philosophie	35
3.17	Religion	36
3.18	Interdisziplinäre Ergebnisse	37
4	Fazit	38

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1 Einleitung	1
2 Methodik	4
2.1 Allgemeine Bemerkungen	4
2.2.1 Perfusionssystem	4
2.2.2 Rollerpumpe	5
2.2.3 Kapillaroxygenator	5
2.3 Versuchstiere	6
2.4 Nephrektomie	6
2.5 Perfusionsvorgang	7
2.6 Perfusate	8
2.7 Meßgrößen	12
2.8 Versuchsprogramm	13
3 Ergebnisse	14
3.1 Versuchsbedingungen	15
3.2 Verhalten der Nieren bei Perfusion mit verschiedenen Perfusaten	16
3.2.1 Laufzeit	16
3.2.2 Druck	16
3.2.3 Perfusionsvolumina	20
3.2.4 Urinausscheidung	27
3.2.5 Hämaturie	27
3.2.6 Nierengewicht	29
4 Diskussion	30
4.1 Einleitung	30
4.2 Diskussion der Methodik	32
4.2.1 Vorteile und Nachteile der isolierten Organperfusion	32
4.2.2 Physiologische Charakterisierung der Versuchsanordnung	36
4.2.3 Problematik der Perfusatpräparation	38
4.3 Interpretation der Ergebnisse und Schlußfolgerungen	40
4.4 Diskussion der Ergebnisse	47
4.5 Zusammenfassende Überlegungen	59
5 Zusammenfassung	61

Abkürzungen

HXAR	=	hyperacute xenogene Abstoßungsreaktion
HV	=	Hundevollblut
RV	=	Rattenvollblut
aHSE	=	aktives Hundeserum + Erythrozyten
iHSE	=	inaktiviertes Hundeserum + Erythrozyten
iHSZ	=	inakt. Hundes. + Erythroz. + Leukozyten + Thromboz.
GE	=	Gelifundol + Erythrozyten
GEZ	=	Gelifundol + Erythroz. + Leukoz. + Thrombozyten
GEzT	=	" + " + zerstörte Thrombozyten
GEzL	=	" + " + zerstörte Leukozyten

1 Einleitung

Die neuere Entwicklung der Medizin hat es mit sich gebracht, daß die Tendenz des therapeutischen Vorgehens bei einer Reihe von konservativ schwer zu beeinflussenden, oft schon in jugendlichem Alter einsetzenden Erkrankungen von der Verbesserung der schwer gestörten Organfunktion zum Ersatz des erkrankten Organs geht. Da die Forschung auf diesem Gebiet mit großem personellen und finanziellen Aufwand verbunden ist, soll kurz auf die Zahl der Patienten eingegangen werden, die für einen Organersatz in Betracht kommen. Nach BÜCHERL (21) sterben in der BRD im Jahr ca. 800 000 Menschen, ein Drittel davon am Verlust eines Organs. Bei etwa 5 000 Menschen ist dieses Organ die Niere. Bei 10% von ihnen wäre auch bei strenger Indikationsstellung ein Organersatz angezeigt.

Die experimentelle Erforschung des Organersatzes hat sich auf zwei Wegen entwickelt:

1. Es wird versucht, künstliche Organe zu entwerfen, die wesentliche Teile der ausgefallenen Organfunktionen übernehmen könnten. Dabei bestehen vor allem Probleme der Grenzflächenreaktionen und der Energiebereitstellung.
2. Umfangreicher ist die Problematik bei der Transplantation von menschlichen Organen. Während die Schwierigkeiten bei der Organkonservierung weitgehend beseitigt sind, und eine ethisch-juristische Regelung in Aussicht steht, ist die Frage der Organbeschaffung trotz zahlreicher Versuche internationaler Zusammenarbeit noch völlig unzureichend gelöst (37). Die immunologische Problematik hat bei der Organtransplantation innerhalb der Spezies Mensch längst das Stadium der klinischen Erprobung erreicht, doch ist nach LAND (65) die routinemäßige Organtransplantation von Mensch zu Mensch selbst bei optimaler Lösung der immunologischen Fragen wegen der genannten logistischen Probleme nur in begrenztem Maß möglich.

Als Ausweichmöglichkeit ergibt sich die Transplantation von Tier-Organen. Dabei eröffnen sich relativ günstige Aspekte, weil eine Vorbehandlung der Organspender hier in ganz anderem Maß möglich ist (65, 105). Doch haben Bemühungen in dieser Richtung nach LAND

erst Aussicht auf Erfolg, wenn die Barriere der hyperakuten Abstoßung vaskularisierter Spenderorgane durch den Empfängerorganismus überwunden ist. Die Kriterien der Hyperakuten Xenogenen Abstoßungsreaktion (HXAR) sind folgendermaßen definiert:

Innerhalb von Minuten bis Stunden nach Bluteintritt in das transplantierte Organ kommt es zur Beeinträchtigung der Organfunktion:

1. die Durchblutung nimmt rasch ab, 2. Ödeme, Stauung und Hämorrhagie treten auf, 3. massive Endothelläsionen, 4. die Organfunktion bricht zusammen.

Eine pharmakologische Beeinflussung auf immunologischem Weg erscheint wenig aussichtsreich, solange der genaue Mechanismus nicht bekannt ist. Noch 1971 beobachtete SHONS (122) die HXAR einer Schaffniere, die er über einen Scribner-Shunt an einen Patienten angeschlossen hatte. Trotz einer immunsuppressiven Therapie mit Azathioprin, Prednison und Antilymphozytenserum wurde die Niere innerhalb von 50 Minuten abgestoßen.

Zum Zeitpunkt der Inbeginnahme dieser Arbeit war die Beteiligung von Antikörpern, Komplement, Leukozyten und Thrombozyten bereits bekannt, offen war, in welcher Reihenfolge und über welche Mechanismen sie angriffen. Um diese Faktoren getrennt voneinander zu untersuchen, konnte in der vorliegenden Untersuchung auf ein geschlossenes In vitro-Organperfusionssystem zurückgegriffen werden, dessen Tauglichkeit bereits in Versuchen mit allogener In vitro-Hämo-perfusion bewiesen worden war (64).

Die Spezies-Kombination Ratte-Hund bot sich wegen der günstigen Organgröße der Rattenniere und dem Vorteil hoher Antikörpertiter des Hundes gegen Rattengewebe an. Die xenogene In vitro-Perfusion isolierter Rattennieren mit heparinisiertem Hundevollblut führte nach 15 - 45 Minuten zu einer Abstoßungsreaktion nach den oben geschilderten Kriterien, die dem Verhalten der Rattenniere bei direktem Anschluß an die Arteria femoralis des Hundes entsprach (3). Auf der Basis dieser Vorversuche konnte mit den eigentlichen Versuchen begonnen werden: Während A. SCHILLING (116) vor allem die Wirkung der einzelnen Serumfraktionen untersuchte, befaßt sich die vorliegen-

de Arbeit mit der Fähigkeit der zellulären und korpuskulären Blut-elemente, in Interaktion mit den Serumfaktoren Komplement und Antikörper eine hyperakute Abstoßungsreaktion hervorzurufen.

2 Methodik

2.1 Allgemeine Bemerkungen

Der experimentelle Teil der vorliegenden Untersuchung wurde in der Zeit von April 1970 bis Januar 1972 durchgeführt. Die von W.LAND et al. (64) entwickelte Methodik wurde unter Berücksichtigung der von A. SCHILLING (116) vorgeschlagenen Verbesserungen übernommen.

2.2.1 Perfusionssystem

Das Perfusionssystem besteht im wesentlichen aus Perfusionskammer, Rollerpumpe und Kapillaroxygenator.

Das perfundierte Organ hängt an der Perfusionskanüle in der trichterförmigen Perfusionskammer und schwimmt so in der Perfusionsflüssigkeit, daß es durch Übersichtung mit Silikonöl¹⁾ unter Luftabschluß gehalten wird. Auf eine Kanülierung der Vena renalis wurde verzichtet: Das Blut fließt aus der hilusnah durchtrennten Vena renalis direkt in die als venöses Reservoir dienende Perfusionskammer. Das Perfusat gelangt dann in den von A.SCHILLING (116) entwickelten Kapillaroxygenator, wo der Gasaustausch gegen reinen Sauerstoff erfolgt. Von hier wird das Perfusat durch die Rollerpumpe abgesaugt und zur Perfusionskanüle gepumpt. Die Elemente der Perfusionsanordnung sind durch Silikon-Kautschuk-Schläuche miteinander verbunden.

Die Temperatur des Perfusates wird durch einen Thermostaten konstant bei 37°C gehalten. Die Perfusionskammer und die Strecke zwischen Rollerpumpe und Perfusionskanüle werden innerhalb einer doppelten Wandung nacheinander mit Heizflüssigkeit aus dem Thermostaten umspült. Über einen in der Perfusionskammer befindlichen Thermofühler kann die Temperatur ständig kontrolliert werden.

1) Silikonöl AK250 Wacker Chemie München

Der Perfusionsdruck wird kontinuierlich über einen seitenständig vor der Perfusionskanüle angebrachten Teflonschlauch mit einem Statham Element¹⁾ gemessen.

2.2.2 Rollerpumpe

Die Rollerpumpe besteht aus fünf gleitgelagerten Walzen, die sich um eine in zwei Kugellagern laufende Achse drehen. Der Antrieb erfolgt durch einen 220 Volt-Wechselstrommotor. Die Pumpendrehzahl kann über ein Reibradgetriebe stufenlos von 4 bis 110 Umdrehungen pro Minute reguliert werden. Bei dem verwendeten Pumpenschlauch mit einem Hub von 0,07 ml/Umdrehung ist das Perfusionsvolumen entsprechend zwischen 0,28 und 7,7 ml/min regelbar.

Der Pumpenschlauch wird von den Walzen gegen einen Pumpenbacken ausgepreßt, der über eine Schraubspindel verschoben werden kann. Um die Pumpe occlusiv zu stellen, wird ein Steigrohr mit 2 Meter Wassersäule an den Pumpenschlauch angeschlossen, und der Pumpenbacken soweit gegen den Schlauch verschoben, bis keine Flüssigkeit aus dem freien Schlauchende tritt.

2.2.3 Kapillaroxygenator

Der Kapillaroxygenator wurde von A.SCHILLING (116) nach einem von MARX und BRENDEL angegebenen Modell entwickelt. 37 Schläuche aus Silikon-Kautschuk²⁾ sind an beiden Enden in je einen Metallraster mit 37 Bohrungen vergossen. Die beiden Metallplatten werden so in eine Plexiglashülse gehängt, daß die Kapillarschläuche parallel und unverdrillt leicht gespannt gehalten werden. Aus 15 Bohrungen eines zu den Kapillaren parallel verlaufenden Glasrohres werden sie senkrecht zu ihrer Verlaufsrichtung mit reinem Sauerstoff angeblasen (1 Liter pro Minute).

1) Statham Laboratories Inc., Hato Wey/Puerto Rico

2) Silikon-Kautschuk-Schläuche, Detakta Isolier- und Meßtechnik, Hamburg
0,7 mm Durchmesser, 0,1 mm Wandstärke, 150 mm Länge

2.3 Versuchstiere

Als Nierenspender und zur Entblutung wurden koloniegezüchtete männliche Sprague-Dawley Ratten mit einem Gewicht zwischen 180 und 250 Gramm verwendet.¹⁾ Die Tiere erhielten Fertigfutter²⁾ sowie Wasser ad libitum. 45 Minuten vor Beginn der Nephrektomie wurden die Spenderratten im Ätherrausch³⁾ mit 0,45% NaCl-Lösung (5 ml/100 g KG) über eine Magensonde belastet.

Hundeblut zur Hämoperfusion der Rattennieren wurde fünf mischrasigen Tieren beiderlei Geschlechts mit einem Gewicht von 20 bis 35 kg entnommen. Sie wurden in einem Zwinger des Instituts oder in einem Freigehege gehalten. Als Nahrung erhielten sie gekochte Reisfleischgerichte und Wasser ad libitum.

2.4 Nephrektomie

In Chloralhydratnarkose (360 mg/kg KG) wurde die Bauchhöhle durch einen Medianschnitt eröffnet. Der linke Urether wurde freipräpariert, distal unterbunden, incidiert und mit einem Polyaethylenkatheder⁴⁾ kanüliert. Der Katheder wurde nahe an das Nierenbecken vorgeschoben und 1/2 cm proximal der Incision eingebunden. Die linke Niere wurde mit der Capsula adiposa vom umgebenden Gewebe gelöst und nach Darstellung des Gefäßstieles unter Erhaltung eines Aortenstumpfes excidiert.

Eine Minute vor der Excision wurden 750 IE Heparin⁵⁾ in 1,5 ml physiologischer NaCl-Lösung in die Vena Cava injiziert.

Nach der Excision wurde der Aortenstumpf gegenüber dem Nierenarterienabgang längsgespalten, und die Arteria renalis wurde mit der Perfusionskanüle kanüliert.

1) Tierzucht Bäumler, Wolfratshausen

2) Altromin^R

3) "Äther zur Narkose", Farbwerke Höchst AG, Frankfurt/Main

4) Intramedic PE 10

5) Heparin-Novo^R, Novo-Industrie GmbH, Mainz

2.5 Perfusionsvorgang

Nach einer manipulationsbedingten Anoxie wurde mit der In vitro-Perfusion der isolierten Niere begonnen.

Vorperfusion

Während der Vorperfusion wurde die Niere mit der im Perfusionssystem befindlichen Ringerlösung von 37°C in ein mit Ringerlösung von Raumtemperatur gefülltes Gefäß perfundiert.

Die Vorperfusion läßt sich in folgende Stadien einteilen:

- Einleitung der Vorperfusion bei niedriger Drehzahl der Rollerpumpe
- Steigerung der Drehzahl, bis ein Perfusionsdruck von 40 bis 60 mm Hg erreicht war
- Perfusion bei 40 bis 60 mm Hg für etwa 5 Minuten
- Steigerung der Drehzahl, bis sich ein Perfusionsdruck von 100 bis 110 mm Hg einstellte.

Durch die Vorperfusion wurde das noch im Spenderorgan verbliebene Spenderblut ausgewaschen. Die Rattenniere nahm im Verlauf der Vorperfusion eine blasse hellbraune Färbung an. Wenn das Perfusionsvolumen während der Vorperfusion unter $1,5 \text{ ml/g} \cdot \text{min}$ blieb, wurde der Versuch abgebrochen.

Hatte sich bei einem Perfusionsdruck von 100 bis 110 mm Hg ein ausreichendes Perfusionsvolumen eingestellt, so wurde das zu untersuchende Perfusat in das System gegeben, und die Niere in die Perfusionskammer gehängt.

Hauptperfusion

Die Hauptperfusion begann mit dem Eintritt des Perfusates in die Rattenniere. Um den Perfusionsdruck von 110 mm Hg auch bei Veränderungen des Nierengefäßwiderstandes konstant zu halten, wurde die Pumpendrehzahl erhöht oder gesenkt. Sank das Perfusionsvolumen im Verlauf der Hauptperfusion unter $0,3 \text{ ml/g} \cdot \text{min}$, wurde der Versuch nach 120 Minuten beendet.

2.6 Perfusate

Folgende Perfusate wurden getestet:

1. Vollblut:
 - a) Rattenvollblut = allogene Kontrolle
 - b) Hundevollblut = xenogene Kontrolle
2. Zusammengesetzte Perfusate aus
 - a) Zellen und korpuskulären Blutbestandteilen
 - b) Serum, aktiv und hitzeinaktiviert
 bzw.

Plasmaersatz

10 ml des zu testenden Perfusates wurden im Perfusionssystem mit 14 ml Ringerlösung diluiert, wodurch sich ein Hämatokrit von 25% einstellte. Der pH-Wert des Perfusates wurde durch Zugabe von 8,4% NaHCO_3 konstant gehalten.

zu 1.a) Rattenvollblut

Es wurden Sprague-Dawley Ratten männlichen Geschlechtes mit einem Gewicht von ca. 500 g verwendet. In Äthernarkose wurde die Bauchhöhle durch einen Medianschnitt eröffnet. Die Aorta abdominalis wurde freigelegt und punktiert. Das Blut wurde in einer Plastikrekordspritze¹⁾ aufgefangen. Die Blutgerinnung wurde mit Heparin (750 IE/10 ml Vollblut) gehemmt.

zu 1.b) Hundevollblut

Das Blut wurde den Versuchshunden unmittelbar vor Perfusionsbeginn aus den Brachialvenen der Vorderpfoten abgenommen. Die Gerinnungshemmung erfolgte wie bei Rattenvollblut.

zu 2.a) Zellen und korpuskuläre Blutbestandteile

Alle Arbeitsgänge zur Isolierung der einzelnen Blutbestandteile wurden in silikonisierten Glasröhrchen und Glaspipetten durchgeführt.

13 ml Vollblut wurden mit einer Plastikspritze in 2,5 ml EDTA aufgezogen. Nach Zugabe von 2 ml Dextran (Dextran MG 250 000, 3%ig in 0,9% NaCl-Lösung) und 8 ml 0,9% NaCl-Lösung wurde das Blut in 25-ml-Röhrchen bei 180 g über 20 Minuten zentrifugiert. Anschließend wurden die Zellkompartimente einer getrennten Behandlung unterzogen.

1) Braun, Melsungen

- Thrombozyten: Der aus der ersten Zentrifugation erhaltene Überstand wurde bis 1/2 cm über der Leukozytenschicht abgehoben und in zwei weiteren Röhrchen mit 0,9% NaCl auf 25 ml aufgefüllt. Nach 30-minütiger Zentrifugation bei 600 g wurde der Überstand abgesaugt, und die im Rückstand befindlichen Thrombozyten in je 2 ml 0,9% NaCl durch vorsichtiges Schütteln resuspendiert.
- Leukozyten: Zum Rückstand aus der ersten Zentrifugation, der Leukozyten und Erythrozyten enthielt, wurden 2 ml Dextran, 1 ml EDTA und 10 ml 0,9% NaCl zugegeben. Nach vorsichtigem Aufschütteln wurde die Suspension 20 Minuten bei 350 g zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen, die Leukozyten wurden abgehoben und in 2 ml 0,9% NaCl aufgeschüttelt.
- Erythrozyten: Der Rückstand aus der Leukozytengewinnung wurde zweimal in 0,9% NaCl gewaschen und 20 Minuten bei 300 g zentrifugiert. Nach der zweiten Zentrifugation wurden die Waschflüssigkeit abgesaugt und 4 ml Erythrozyten entnommen.

Bevor die einzelnen Zellgruppen gemischt und in das Perfusionssystem gegeben wurden, wurden sie auf Aggregation geprüft. Die Untersuchung der Erythrozyten und Leukozyten erfolgte im Lichtmikroskop bei 125facher Vergrößerung, die Untersuchung der Thrombozyten nach dem Phasenkontrastverfahren bei 600facher Vergrößerung.

Mit Ultraschall zerstörte Zellen

Nach dem oben beschriebenen Verfahren gewonnene Leukozyten und Thrombozyten wurden folgender Behandlung unterworfen:

Die Zellen wurden in 2 ml 0,9% NaCl resuspendiert und darauf mit einem Ultraschallgerät zur Zellzerstörung¹⁾ ungefähr eine Minute behandelt, bis die Flüssigkeit ihre Trübung verloren hatte und durchsichtig geworden war. Dann wurde mit 0,9% NaCl-Lösung auf 5 ml aufgefüllt und 20 Minuten bei 20 000 g ultrazentrifugiert.

2 ml des Überstandes wurden in eine Spritze aufgezogen und innerhalb von 15 Sekunden in den Perfusionsschlauch kurz vor der Rollerpumpe injiziert. Die Testung der verschiedenen Überstände erfolgte

1) Braun-Sonic 300, Quigley/Rochester, Sonde 9,5 mm Ø, Einstellung 60

bei Perfusion mit Gelifundol und Erythrozyten 20 Minuten nach Beginn der Hauptperfusion.

zu 2.b) Serum bzw. Plasmaersatz

Zur Serumgewinnung wurden den fünf Hunden vor Beginn der Versuchsserie in Nembutal-Narkose¹⁾ je 500 ml Blut durch Punktion der Arteria femoralis abgenommen. Nach der Zentrifugation wurde das gewonnene Serum (ca. 250 ml bei 500 ml Blut) in Portionen zu 10 ml bei -30°C tiefgefroren. Zwei Stunden vor dem Versuch wurde die hierfür benötigte Serummenge aufgetaut. Für die Versuche mit hitzeinaktiviertem Serum wurde das aufgetaute Serum 30 Minuten im Wasserbad auf 56°C erhitzt und anschließend 20 Minuten bei 1 500 g zentrifugiert.

Als Plasmaersatz wurde Gelifundol²⁾ verwendet.

Der Zeitplan war so abgestimmt, daß die Bestandteile des Perfusates jeweils kurz vor Versuchsbeginn verwendungsfähig waren. Sie wurden gemischt, im Wasserbad auf 37°C erwärmt und am Ende der Vorperfusion in das Perfusionssystem gegeben.

1) Nembutal^R, Deutsche Abott GmbH, Ingelheim/Rhein

2) Gelifundol^R, Biotest-Serum-Institut GmbH, Frankfurt/Main

Abb. 1 Schema zur Vorbereitung verschiedener Hämoperfusate

1 Hund oder Ratte		
korpuskuläre Elemente: Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten	Serum	bzw. Plasmaersatz
vor jedem Versuch frisch abgenommen	aus einer größeren Blutabnahme vor Beginn der Versuchs- reihe gewonnen	
durch Differentialzentrifugation isoliert	bei -30°C eingefroren	
	vor Versuchsbeginn aufgetaut	
2-mal gewaschen	hitzeinaktiviert (bei iHSE, IHSZ, iRSZ)	
Vol.: 4 ml	Vol.: 6 ml	Vol.: 6 ml
	bzw.	
	mischen, kurz vor Zugabe ins Perfusionssystem puffern auf pH 7,35, erwärmen auf 37°C;	
	10 ml Hämoperfusat + 14 ml Ringerlösung (im Perfusionssystem befindlich)	
	Testperfusat (Hkt=25%)	

2.7 Meßgrößen

Folgende Zeiten wurden bei jedem Versuch gemessen:

Anoxiezeit, Ischämiezeit, Laufzeit

Sie sind wie folgt definiert:

Anoxiezeit als der Zeitraum vom Abklemmen der Rattenaorta bis
zum Beginn der Vorperfusion

Ischämiezeit als der Zeitraum vom Abklemmen der Rattenaorta bis
zum Beginn der Hauptperfusion, umfassend die Anoxiezeit
und die Vorperfusion

Laufzeit als die Dauer der Hauptperfusion

Ferner wurden gemessen:

der Perfusionsdruck¹⁾, die Pumpendrehzahl, die Temperatur²⁾ kontinuierlich während der gesamten Perfusion,

der pH-Wert³⁾ des Perfusates in halbstündlichem Abstand
der Hämatokrit⁴⁾ in viertelstündlichem Abstand

die ausgeschiedene Urinmenge in viertelstündlichem Abstand

das Feuchtgewicht⁵⁾ der perfundierten Niere nach der Perfusion; als
Vergleichswert wurde das Gewicht der kontralateralen Niere bestimmt;

die Osmolarität⁶⁾ von Perfusat und Urin nach Versuchsende

Perfusionsdruck, Pumpendrehzahl und eine Zeitmarkierung wurden
während der gesamten Perfusion auf einem Direktschreiber⁷⁾ kontinuierlich registriert.

1) Statham-Druckmeßkopf

2) Temperatursonde Hellige

3) pH-meter

4) Mikrohämatokritzentrifuge

5) Feine Federwaage, Original Rebüre

6) Mikroosmometer, Dr.-Ing. H. Knauer, Berlin

7) Direktschreiber Hellige MR 76, American Optic Comp.

Berechnungen

Das Perfusionsvolumen V_p pro Minute wurde nach folgender Formel berechnet:

$$V_p = \frac{\text{Pumpendrehzahl} \cdot \text{Hub/Umdrehung}}{\text{Zeit}} =$$

$$= \frac{\text{Pumpendrehzahl} \cdot 0,07}{\text{min}} \quad (\text{ml})$$

2.8. Versuchsprogramm

1. Kontrollen

Perfusion mit Rattenvollblut ($n = 5$), inaktiviertem Rattenserum + Rattenzellen (= Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten) ($n = 5$), Hundevollblut ($n = 5$)

2. Gelifundol in Kombination mit Hundezellen

Perfusion mit Gelifundol + Hundeerythrozyten ($n = 3$), Gelifundol + Hundeleukozyten, -erythrozyten, -thrombozyten ($n = 5$)

3. Hundeserum in Kombination mit Hundezellen

Perfusion mit Nativserum + Hundeerythrozyten ($n = 4$), inaktiviertem Serum + Hundeerythrozyten ($n = 5$), inaktiviertem Serum + Hundeleukozyten, -erythrozyten, -thrombozyten ($n = 6$)

4. Zerstörte Hundezellen

Perfusion mit Gelifundol + Hundeerythrozyten in Kombination mit zerstörten Hundethrombozyten ($n = 6$) und zerstörten Hundeleukozyten ($n = 4$).

3 Ergebnisse

3.1 Versuchsbedingungen (Tab. 1)

In den hier zusammengefaßten Meßgrößen werden die beim Einzelkollektiv gegebenen Versuchsbedingungen ausgedrückt. Um einheitliche und untereinander vergleichbare Kollektive zu erhalten, wurden Anoxie, Ischemie, Hämatocrit und pH-Wert bei allen Versuchen möglichst konstant gehalten. Die Konstanz der Temperatur ist bereits durch die Versuchsanordnung gegeben.

Bei den angegebenen Meßgrößen ist jeweils der niedrigste und der höchste Einzelkollektivwert angegeben:

Anoxiezeit:	$3,3 \pm 0,3$	-	$5,33 \pm 0,9$	min
Ischemiezeit:	$10,4 \pm 2,1$	-	$17,3 \pm 2,7$	min
Hämatokrit:	$10,2 \pm 1,9$	-	$25,3 \pm 0,6$	%
pH-Wert:	$7,30 \pm 0,10$	-	$7,46 \pm 0,11$	

Tabelle 1: Meßwerte der die Versuchsbedingungen darstellenden Größen bei Hämoperfusion von Rattennieren:
Anoxie (T_a), Ischämie (T_i), Hämatokrit ($Hct_o - Hct_e$),
pH-Wert

Perfusion mit:	T_a min	T_i min	Hct_o %	Hct_e %	pH_e
RV	3,3 ± 0,3	12,0 ± 0,5	22,3 ± 1,9	22,0 ± 1,2	7,36 ± 0,1
HV	4,8 ± 0,7	15,8 ± 1,5	24,2 ± 1,6	24,4 ± 0,5	7,30 ± 0,1
aHSE	3,7 ± 0,4	13,6 ± 1,6	23,3 ± 1,2	23,0 ± 1,1	7,41 -
iHSE	4,0 ± 0,4	12,4 ± 1,4	22,4 ± 0,8	22,4 ± 0,8	7,40 -
iHSZ	5,3 ± 0,9	10,7 ± 2,1	21,3 ± 0,5	21,1 ± 1,0	7,37 ± 0,2
iRSZ	3,2 ± 0,2	12,3 ± 0,3	21,2 ± 0,7	22,2 ± 0,6	7,40 -
GE	5,0 ± 0,2	15,7 ± 1,7	25,3 ± 2,3	25,7 ± 2,6	7,42 ± 0,1
GEZ	4,6 ± 0,2	13,6 ± 2,6	22,3 ± 1,4	21,8 ± 1,2	7,41 ± 0,1
GEzT	4,9 ± 0,2	15,5 ± 1,9	24,0 ± 1,1	24,3 ± 1,3	7,40 -
GEzL	5,0 ± 0,3	15,0 ± 1,5	23,7 ± 1,9	23,4 ± 1,6	7,38 ± 0,1

RV=Rattenvollblut; HV=Hundevollblut; aHSE=akt. Hundeserum+Erythr.;
iHSE=inakt. Hundeserum+Erythr.; iHSZ=inakt. Hundeserum+alle Zellen;
iRSZ=inakt. Rattenserum+alle Zellen; GE=Gelifundol+Erythr.;
GEZ=Gelifundol+alle Zellen; GEzT=Gelifundol+Erythr.+zerst. Thrombozyten;
GEzL=Gelifundol+Erythr.+zerst. Leukozyten

3.2 Das Verhalten der Nieren bei Perfusion mit verschiedenen Perfusaten (Tab. 2)

3.2.1 Laufzeit und funktionelle Perfusion

Aus Laufzeit und Dauer der funktionellen Perfusion wird in der vorliegenden Versuchsanordnung auf die Art der jeweiligen Modifikation der HXAR geschlossen.

Die Laufzeit war nur bei der Perfusion mit HV kürzer als 120 Minuten. Alle anderen Kollektive wurden nach 120 Minuten abgebrochen. Bei Gelifundol + Erythrozyten + zerstörte Thrombozyten trug die Laufzeit nicht zur Beurteilung bei, da die Perfusion in jedem Versuch wenige Minuten nach Zugabe des Überstandes der zerstörten Thrombozyten beendet war, unabhängig von der Gesamtdauer der Perfusion. Die von A. SCHILLING (116, S25) eingeführte Größe der funktionellen Perfusion bei 1 ml/g·min wurde übernommen. Bei diesem Wert ist eine minimale nutritive O₂-Versorgung des Nierengewebes gewährleistet. Die funktionelle Perfusion wurde bei Perfusion mit Hundevollblut ab der 50. Minute und bei Perfusion mit aktivem Hundeserum + Erythrozyten ab der 60. Minute unterschritten. Bei allen anderen Kollektiven war sie während der gesamten Perfusionsdauer gewährleistet.

3.2.2 Druck

Es wurde angestrebt, den Perfusionsdruck während der Laufzeit bei einem Wert von 110 mm Hg zu halten.

Die Messungen ergaben, daß der Perfusionsdruck bei allen Versuchen zwischen 100 und 120 mm Hg lag.

Tabelle 2: Meßwerte der Laufzeit (T_l), der Dauer der funktionellen Perfusion (T_f), des U/S_{osmol} , des Gewichtes des rechten (G_{re}) und linken (G_{li}) Niere und der Gewichtszunahme der perfundierten Niere (G) bei Hämoperfusion von Rattennieren

Perfusion mit:	T_l min	T_f min	U/S_{osmol}	G_{re}	G_{li}	G
RV	120	120	1,1	1,1	1,6	39,7
	-	-	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,2$	$\pm 6,2$
HV	44,6	34,0	0,9	0,9	1,4	41,4
	$\pm 8,9$	$\pm 9,9$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 2,0$
aHSE	120	55,0	0,9	1,1	1,5	40,1
	-	$\pm 0,7$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,2$	$\pm 3,8$
iHSE	120	120	1,1	0,9	1,4	47,2
	-	-	$\pm 0,1$	-	-	-
iHSZ	120	120	1,1	1,1	1,4	32,1
	-	-	-	-	$\pm 0,1$	$\pm 4,0$
iRSZ	120	120	1,0	1,0	1,5	50,0
	-	-	0,1	-	0,1	-
GE	120	120	0,9	1,0	1,5	57,7
	-	-	-	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 5,5$
GEZ	120	120	1,0	1,1	1,6	48,4
	-	-	-	$\pm 0,1$	$\pm 0,2$	$\pm 3,6$
GEzL	120	0-15;	0,9	1,0	1,5	42,3
		25,0-120	0,1	0,2	-	5,6

RV=Rattenvollblut; HV=Hundevollblut; aHSE=akt.Hundeserum+Erythr.; iHSE=inakt.Hundeserum+Erythr.; iHSZ=inakt.Hundeserum+alle Zellen; iRSZ=inakt. Rattenserum+alle Zellen; GE=Gelifundol+Erythr.; GEZ=Gelifundol+alle Zellen; GEzT=Gelifundol+Erythr.+zerst.Thrombozyten; GEzL=Gelifundol+Erythr.+zerst.Leukozyten

Tabelle 3:

Verhalten der Perfusionsvolumina Vp(ml/g·min) während der 120-minütigen Hämoperfusion von Rattennieren

Zeit (min)	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55
RV	3,8 ±0,4	1,7 ±0,3	2,6 ±0,3	3,1 ±0,2	3,3 ±0,3	3,5 ±0,2	3,6 ±0,2	3,7 ±0,2	3,9 ±0,2	3,8 ±0,2	3,9 ±0,1	3,9 ±0,1
HV	3,3 ±0,6	2,0 ±0,6	2,2 ±0,8	2,1 ±0,8	2,3 ±0,8	2,7 ±0,8	2,4 ±0,8	2,1 ±0,7	1,7 ±0,4	1,3 ±0,4	0,8 ±0,2	0,6 ±0,2
aHSE	3,4 ±0,4	1,2 ±0,4	1,8 ±0,6	1,9 ±0,8	1,8 ±0,8	1,7 ±0,9	1,6 ±0,6	1,5 ±0,6	1,5 ±0,4	1,4 ±0,3	1,2 ±0,4	1,1 ±0,4
iHSE	3,3 ±0,3	2,8 ±0,2	3,7 ±0,5	4,5 ±0,8	4,2 ±0,8	4,4 ±0,8	4,7 ±0,5	4,6 ±0,5	4,6 ±0,6	4,3 ±0,3	4,0 ±0,5	3,7 ±0,5
iHSZ	3,6 ±0,5	2,1 ±0,3	3,9 ±0,4	5,0 ±0,3	5,2 ±0,2	5,3 ±0,1	5,5 ±0,1	5,5 ±0,1	5,2 ±0,3	5,1 ±0,3	4,4 ±0,4	4,1 ±0,4
iRSZ	3,5 ±0,7	0,7 ±0,4	1,3 ±0,1	1,9 ±0,2	2,3 ±0,2	2,4 ±0,2	2,9 ±0,2	3,2 ±0,1	3,4 ±0,3	3,7 ±0,2	3,7 ±0,5	3,7 ±0,2
GE	3,4 ±0,2	5,5 ±0,5	6,1 ±0,2	6,7 ±0,9	6,4 ±0,8	4,7 ±1,4	4,6 ±1,4	4,3 ±1,4	4,0 ±1,2	3,8 ±1,3	3,5 ±1,4	3,4 ±1,5
GEZ	3,8 ±0,5	4,5 ±1,0	4,0 ±0,9	3,2 ±0,9	4,8 ±1,2	5,3 ±1,4	6,4 ±1,5	6,7 ±1,5	6,3 ±1,3	6,2 ±1,3	5,8 ±1,0	5,8 ±0,8
GEzT	3,4 ±0,2	2,4 ±0,7	4,5 ±0,7	4,8 ±0,6								
GEzL	3,5 ±0,3	2,8 ±0,8	4,6 ±0,8	5,2 ±0,7	1,2 ±0,5	0,8 ±0,9	1,4 ±1,1	2,0 ±1,0	2,3 ±1,1	2,6 ±0,9	2,8 ±0,9	3,3 ±0,8

RV=Rattenvollblut; HV Hundevollblut; aHSE=akt. Hundeserum+Erythr.; iHSE=inakt. Hundeserum+Erythr.; iHSZ=inakt. Hundeserum+alle Zellen; iRSZ=inakt. Rattenserum+alle Zellen; GE=Gelfundol+Erythr.; GEZ=Gelfundol+alle Zellen; GEzT=Gelifundol+Erythr. +zerst. Thrombozyten; GEzL=Gelfundol+Erythr. +zerst. Leukozyten

Fortsetzung Tabelle 3:

Zeit (min)	60	65	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120
kV	3,7 +0,1	3,7 +0,1	3,6 +0,1	3,6 +0,1	3,5 +0,1	3,5 +0,2	3,6 +0,1	3,4 +0,2	3,1 +0,2	2,8 +0,2	2,7 +0,2	2,8 +0,2	2,7 +0,3
HV	0,3 -												
aHSE	0,9 +0,3	0,8 +0,3	0,8 +0,2	0,9 +0,3	0,8 +0,3	0,8 +0,1	0,6 +0,2	0,6 +0,2	0,5 +0,1	0,5 +0,2	0,4 +0,1	0,3 +0,1	0,3 +0,1
iHSE	3,4 +0,5	3,4 +0,5	3,1 +0,6	2,8 +0,7	2,7 +0,7	2,7 +0,7	2,5 +0,9	2,7 +0,8	2,6 +0,6	2,5 +0,6	2,4 +0,7	2,2 +0,7	1,8 +0,6
iHSZ	3,8 +0,4	3,4 +0,5	3,1 +0,6	3,0 +0,5	2,8 +0,6	2,4 +0,6	2,4 +0,6	2,3 +0,6	2,0 +0,5	1,8 +0,5	1,7 +0,5	1,6 +0,4	1,5 +0,4
iRSZ	3,7 +0,2	3,7 +0,2	3,8 +0,2	3,7 +0,3	3,9 +0,1	3,9 +0,2	3,3 +0,4	3,3 +0,4	3,4 +0,4	3,2 +0,6	3,2 +0,6	3,2 +0,6	3,2 +0,6
GE	3,0 +1,3	3,0 +1,1	3,0 +1,1	2,7 +1,0	2,7 +1,0	2,7 +0,9	2,7 +0,9	2,8 +0,9	2,7 +0,8	2,6 +0,7	2,5 +0,7	2,4 +0,7	2,4 +0,7
GEZ	5,6 +0,9	5,5 +0,8	5,0 +0,7	4,8 +0,8	4,8 +0,7	4,7 +0,6	4,5 +0,7	4,2 +0,7	4,0 +0,8	3,9 +0,7	3,4 +0,9	3,2 +0,6	3,1 +0,5
GEzL	3,7 +0,7	3,6 +0,7	3,6 +0,6	3,4 +0,5	3,2 +0,7	3,2 +0,8	3,0 +0,7	3,2 +0,8	3,0 +0,7	3,0 +0,6	3,0 +0,4	2,9 +0,5	2,9 +0,5

3.2.3 Das Verhalten der Perfusionsvolumina V_p (s. Tabelle 3)

1. Vollblutperfusionen (Abb. 2)

Rattenvollblut (RV): Innerhalb der ersten 5 Minuten sinkt V_p von 3,8 auf 1,7 ml/g·min, bis zur 40. Minute erreicht es ein Maximum von 3,9 ml/g·min und sinkt bis zur 120. Minute allmählich auf 2,7 ml/g·min ab.

Hundevollblut (HV): Von einem Maximum bei Perfusionsbeginn von 3,3 ml/g·min sinkt V_p in den ersten 5 Minuten auf 2,0 ml/g·min und steigt bis zur 25. Minute wieder auf 2,7 ml/g·min an; von da an fällt V_p steil ab, unterschreitet in der 50. Minute den Grenzwert der funktionellen Perfusion. Nach der 60. Minute wurden die Versuche wegen Absinken von V_p unter 0,3 ml/g·min abgebrochen.

2. Perfusionen mit aktivem und inaktiviertem Serum (Abb. 4)

Aktives Hundeserum + Erythrozyten (aHSE): Vom Perfusionsbeginn an fällt V_p von einem Anfangswert von 3,4 ml/g·min kontinuierlich ab; in der 60. Minute wird der Grenzwert der funktionellen Perfusion unterschritten; in der 120. Minute beträgt V_p 0,3 ml/g·min.

Inaktiviertes Hundeserum + Erythrozyten (iHSE): In den ersten 5 Minuten fällt V_p auf 2,8 ml/g·min ab, steigt bis zur 30. Minute auf 4,7 ml/g·min an und sinkt bis zur 120. Minute auf 1,8 ml/g·min.

Inaktiviertes Hundeserum + alle Zellen (iHSZ): Nach einem Abfall in den ersten 5 Minuten auf 2,1 ml/g·min steigt V_p bis zur 30. Minute rasch auf 5,5 ml/g·min an und sinkt bis zur 120. Minute auf 1,5 ml/g·min ab.

Inaktiviertes Rattenserum + alle Zellen (iRSZ): In den ersten 5 Minuten sinkt V_p auf 0,7 ml/g·min ab, erreicht nach einem Plateau von der 45. bis zur 75. Minute bei 3,7 ml/g·min in der 80. Minute das Maximum und fällt bis zur 120. Minute auf 3,1 ml/g·min ab.

3. Perfusionen mit Serumersatz (Abb. 3)

a) Gelifundol + Erythrozyten (GE): Hierbei werden die höchsten

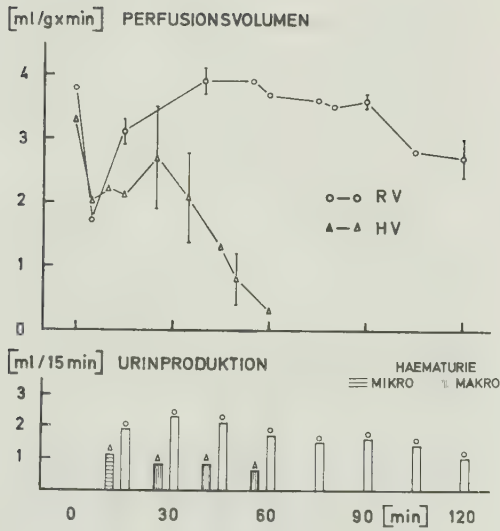


Abb. 2: Perfusionsvolumen und Urinproduktion bei hämoperfundierten Rattennieren. Perfusat: Rattenvollblut (RV) (n=5), Hundevollblut (HV) (n=5)

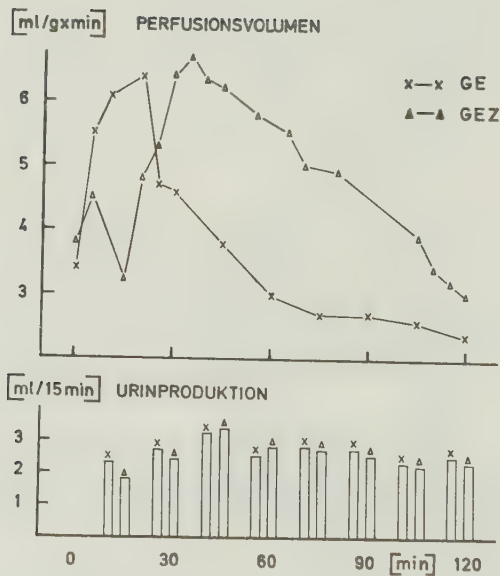


Abb. 3: Perfusionsvolumen und Urinproduktion bei hämoperfundierten Rattennieren. Perfusat: Gelifundol + Hunderythrozyten (GE) (n=3), Gelifundol + Hundezellen (= Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten) (GEZ) (n=5)

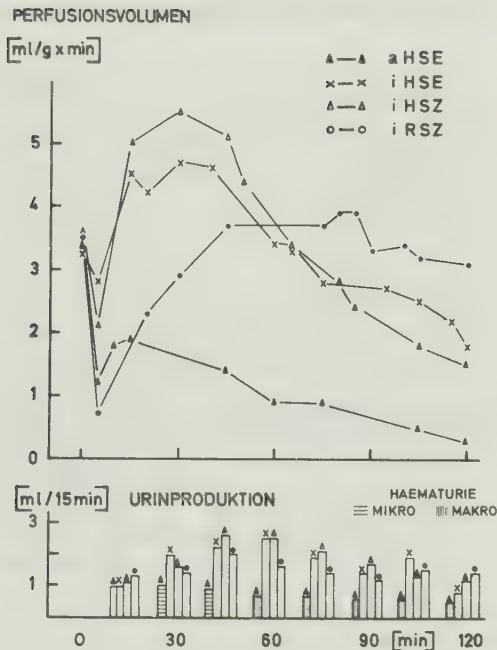


Abb. 4: Perfusionsvolumen und Urinproduktion bei hämoperfundierten Rattennieren. Perfusat: aktives Hundeserum + Hundeerythrozyten (aHSE) (n=4), inaktiviertes Hundeserum + Hundeerythrozyten, (iHSE) (n=5), inaktiviertes Hundeserum + Hundezellen (=Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten) (iHSZ) (n=6), inaktiviertes Rattenserum + Rattenzellen (iRSZ) (n=5)

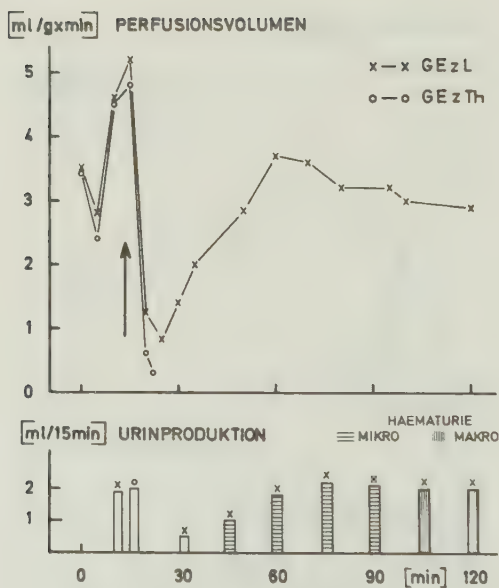


Abb. 5: Perfusionsvolumen und Urinproduktion bei hämoperfundierten Rattennieren. Perfusat: Gelifundol + Hundeerythrozyten + zerstörte Hundethrombozyten (GEzTh) (n=6), Gelifundol + Hundeerythrozyten + zerstörte Hundeleukozyten (GEzL) (n=4)

Werte des V_p von allen Versuchskollektiven erreicht. Ohne Abfall in den ersten 5 Minuten steigt das V_p bis zur 15. Minute auf 6,7 ml/g·min an. Von diesem Punkt kommt es zu einem ziemlich steilen Abfall; nach 120 Minuten beträgt V_p noch 2,4 ml/g·min.

b) Gelifundol + alle Zellen (GEZ): Nach einem Abfall des V_p auf 3,2 ml/g·min wird ein Maximum nach 35 Minuten mit 6,7 ml/g·min erreicht. Der Abfall des V_p entspricht den anderen Perfusionen mit Serumersatz; nach 120 Minuten beträgt V_p 3,0 ml/g·min.

4. Perfusionen mit zerstörten Zellen (Abb. 5)

a) Gelifundol + Erythrozyten + zerstörte Thrombozyten (GEzT): Nach Zugabe des Überstandes einer mit Ultraschall zerstörten Thrombozytensuspension kommt es zum sofortigen Absinken des V_p unter 0,3 ml/g·min.

b) Gelifundol + Erythrozyten + zerstörte Leukozyten (GEzL): Wird das gleiche Verfahren mit einer Leukozytensuspension angewendet, so kommt es ebenfalls zum Abfall des V_p auf 0,6 ml/g·min, nach 30 Minuten ist V_p jedoch wieder auf 3,6 ml/g·min angestiegen. Der weitere Verlauf entspricht der Perfusion mit Gelifundol + Erythrozyten.

Tabelle 4: Verhalten der Urinmengen (ml/15 min) während der 120-minütigen Hämoperfusion von Rattennieren

Zeit	15	30	45	60	75	90	105	120
RV	1,9 ±0,3	2,3 ±0,2	2,1 ±0,1	1,7 ±0,3	1,5 ±0,2	1,6 ±0,2	1,4 ±0,3	1,0 ±0,3
HV	1,1 ±0,2	0,8 ±0,3	0,8 ±0,4	0,6 -				
aHSE	1,0 ±0,3	1,0 ±0,2	0,9 ±0,1	0,7 ±0,4	0,7 ±0,3	0,6 ±0,1	0,6 -	0,5 -
iHSE	0,8 -	1,9 ±0,6	2,2 ±0,5	2,5 ±0,6	1,9 ±0,3	1,4 ±0,3	1,9 ±0,4	0,8 -
iHSZ	1,1 ±0,1	1,6 ±0,3	2,6 ±0,4	2,5 ±0,5	2,1 ±0,5	1,7 ±0,4	1,3 ±0,2	1,2 ±0,3
iRSZ	1,3 -	1,4 ±0,1	2,0 ±0,3	1,6 ±0,2	1,4 ±0,2	1,2 ±0,3	1,5 ±0,1	1,4 ±0,1
GE	2,3 ±0,3	2,7 ±0,4	3,2 ±0,9	2,5 ±0,5	2,8 ±0,3	2,7 ±0,2	2,3 ±0,3	2,5 ±0,5
GEZ	1,8 ±0,3	2,4 ±0,5	3,3 ±0,7	2,8 ±0,5	2,7 ±0,4	2,5 ±0,3	2,2 ±0,4	2,3 ±0,3
GEzT	1,9 ±0,4							
GEzL	2,0 ±0,3	0,5 -	1,0 ±0,1	1,8 ±0,6	2,2 ±0,3	2,1 ±0,2	2,0 ±0,1	2,0 ±0,3

RV=Rattenvollblut; HV=Hundevollblut; aHSE=akt.Hundeserum+Erythr.; iHSE=inakt.Hundeserum+Erythr.; iHSZ=inakt.Hundeserum+alle Zellen; iRSZ=inakt.Rattenserum+alle Zellen; GE=Gelifundol+Erythr.; GEZ=Gelifundol+alle Zellen; GEzT=Gelifundol+Erythr.+zerst.Thrombozyten; GEzL=Gelifundol+Erythr.+zerst.Leukozyten

3.2.4 Das Verhalten von Urinausscheidung und Konzentrationsfähigkeit

Die Urinvolumina wurden alle 15 Minuten gemessen. Die Urinausscheidung lief der Veränderung der Perfusionsvolumina parallel (Tabelle 4).

Aus dem Verhältnis von Urinosmolarität zu Serumsmolarität am Ende der Laufzeit konnte in keinem Fall auf eine Konzentrationsarbeit des Nierenparenchyms geschlossen werden. (Tabelle 2).

3.2.5 Das Auftreten einer Hämaturie (Tabelle 5)

Besondere Beachtung wurde dem Auftreten einer mikroskopisch (Mikrohämaturie) oder mit bloßem Auge (Makrohämaturie) nachweisbaren Hämaturie zugewendet. Dabei ergaben sich folgende Befunde:
RV: In keinem Fall trat eine Hämaturie auf.

HV: Bereits im 15-Minutenurin waren mikroskopisch Erythrozyten nachweisbar; dieser Befund verstärkte sich bis zum Versuchsende in der 60. Minute.

aHSE: Im 30-Minutenurin waren mikroskopisch Erythrozyten nachweisbar; ab der 45. Minute war die Hämaturie in einem Einzelversuch, ab der 60. Minute in allen Versuchen makroskopisch zu sehen. Auch hier verstärkte sich der Befund gegen Versuchsende im 105- und 120-Minutenurin.

iHSE: Kein Befund

iHSZ: In zwei Versuchen war vom 45-Minutenurin an mikroskopisch eine Hämaturie nachweisbar.

GE, GEZ: Bei keiner der Perfusionen mit Gelifundol + intakte Zellen wurde eine Hämaturie gefunden.

GEzT: Hier sistierten Perfusionsvolumen und Urinausscheidung so rasch, daß über das Auftreten einer Hämaturie keine Aussage gemacht werden kann.

GEzL: 15 bis 20 Minuten nach Zugabe des Überstandes kam es zur Mikrohämaturie, in der 75. Minute bei einem, in der 90. Minute bei allen Versuchen zur Makrohämaturie.

Eine Verstärkung des Befundes wurde nicht beobachtet.

Tabelle 5: Auftreten einer Hämaturie im Verlauf der 120 minütigen Hämoperfusion von Rattennieren

Zeit	15	30	45	60	75	90	105	120
RV	-	-	-	-	-	-	-	-
HV	++	+++	+++	+++				
aHSE	-	+	(++)	++	++	++	+++	+++
iHSE	-	-	-	-	-	-	-	-
iHSZ	-	-	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
iRSZ	-	-	-	-	-	-	-	-
GE	-	-	-	-	-	-	-	-
GEZ	-	-	-	-	-	-	-	-
GEzT	-							
GEzL	-	-/+	+	+	+	(++)	++	++

+ = Mikrohämaturie; ++ = Makrohämaturie; +++ = starke Makrohämaturie () = nur bei Einzelversuchen beobachtet
 - = normaler Urinbefund

RV=Rattenvollblut; HV=Hundevollblut; aHSE=akt.Hundeserum+Erythr.;
 iHSE=inakt.Hundeserum+Erythr.; iHSZ=inakt.Hundeserum+alle Zellen;
 iRSZ=inakt.Rattenserum+alle Zellen; GE=Gelifundol+Erythr.;
 GEZ=Gelifundol+alle Zellen; GEzT=Gelifundol+Erythr.+zerst.Thrombozyten;
 GEzL=Gelifundol+Erythr.+zerst.Leukozyten

3.2.6 Das Verhalten des Nierengewichtes (Tabelle 2)

Das Feuchtgewicht der rechten, nicht perfundierten Niere wurde mit dem Gewicht der linken Niere nach Versuchsende verglichen. Die prozentuale Gewichtszunahme wurde auf die unperfundierte Niere bezogen. Die Gewichtszunahme kann nicht mit dem Verhalten der Perfusionsvolumina verglichen werden; die geringste Gewichtszunahme erfolgte bei iHSZ mit 32,1% und bei RV mit 39,7%, die größte bei GE mit 57,7%.

4 Diskussion

4.1 Einleitung

Seit der Wiederaufnahme der klinischen xenogenen Organtransplantation durch Reemtsma im Jahre 1963 ist diesem Sektor der Transplantationsforschung erhöhte Aufmerksamkeit und Aktivität zugewendet worden.

So sind heute vermutlich alle Faktoren bekannt, die in Beziehung zur HXAR stehen:

Die Beteiligung von Antikörpern (66, 100) und Complement (29, 31, 99, 125) ist gesichert, und auch an der Mitwirkung zellulärer und korpuskulärer Blutbestandteile bestehen keine grundlegenden Zweifel.

CALNE (25) weist außerdem noch auf den Einfluß eines unterschiedlichen pH- oder Hormon-Milieus bei Spender und Empfänger hin.

Über die Frage der grundlegenden Wichtigkeit von Thrombozyten und Leukozyten für den Ablauf der HXAR bestehen unterschiedliche Auffassungen. Einige Autoren (69, 83, 86) interpretieren die Rolle der Zellen als Sekundärphänom, andere vertreten die Meinung, daß die Zellen primär über die Freisetzung vasoaktiver Substanzen oder im Sinn einer mechanischen Obstruction (59, 69, 75, 99, 11) wirksam werden.

Um zur Klärung letzterer Fragestellung beizutragen, wurde die von LAND et al., v. LIEBE und SCHILLING (64, 116) entwickelte Versuchsanordnung der isolierten Xenoperfusion von Rattennieren mit Hundeblut übernommen und hinsichtlich der zellulären Perfusatzusammensetzung modifiziert.

Im Folgenden werden neben der allgemeinen physiologischen und immunologischen Tauglichkeit (s.a. A.SCHILLING, Inaug. Diss., 116) die Vor- und Nachteile der Versuchsanordnung insbesondere im Hinblick auf die Untersuchung der zellulären und korpuskulären Blutelemente diskutiert.

Darauf werden die einzelnen Versuchskollektive diskutiert, und zum Schluß wird eine Interpretation der HXAR auf Grund der vorliegenden Ergebnisse versucht.

4.2 Diskussion der Methodik

4.2.1 Vor- und Nachteile der isolierten Organperfusion

Zwei Vorteile der isolierten Organperfusion führten in erster Linie zur ihrer Verwendung bei der Untersuchung der HXAR.

Zum einen kann eine Aufgabenstellung, die die Rolle der Leukozyten, Thrombozyten und des Komplements bei der HXAR klären soll, nur in vitro befriedigend geklärt werden, da die selektive Entfernung eines dieser Faktoren in vivo zum Untergang des Organismus infolge Infektion oder unstillbarer Blutung führen würde.

Zum anderen ergab sich aus histologischen Voruntersuchungen, daß bei der HXAR entscheidende Auslösungsmechanismen bereits in den ersten Minuten nach Kontakt von Spendergewebe mit Empfängerblut in Gang kommen. Nur das in vitro-Modell, das auf den Zeitaufwand einer Implantation des Spenderorgans in den Empfänger verzichtet, kann die frühen Abstoßungsvorgänge erfassen.

STARZL et al. (129) weist auf die Schwierigkeit hin, die Abstoßungsreaktion später histologisch zu kontrollieren. Außerdem entwickelt sich das Abstoßungsgeschehen weiter, allgemeine Grundreaktionen wie die Fibrinablagerung laufen ab, und es ist nicht möglich, später zu differenzieren, welches der Auslösemechanismus war (88).

Als Vorteile der isolierten Perfusion ergeben sich also:

1. die Möglichkeit, artefizielle Versuchsanordnungen durchzuführen, die mit der Integrität eines Gesamtorganismus nicht zu vereinbaren sind, aber am Einzelorgan viel zur Klärung einer Fragestellung beitragen können.
2. auch frühe und womöglich entscheidende Phasen eines biologischen Geschehens zu erfassen, ehe sie von Sekundärvorgängen überlagert und verdeckt werden.

Kritisch muß erörtert werden, ob die bei der Isolierung eines Organs zwangsläufig entstehenden Alterationen einen Vergleich der Ergebnisse mit der Situation in vivo noch gestatten:

Unzweifelhaft werden die perfundierten Nieren durch Manipulationen, angefangen bei der Narkose der Spenderratte über die Präparation bis zur isolierten Perfusion selbst, in ihrer normalen Funktion eingeschränkt (15, 34, 139). Das läßt sich offenbar auch durch optimale Kanülierungstechnik nicht vermeiden (80).

In eigenen Vorversuchen (3) zeigte sich, daß die Nieren mit Aether narkotisierter Spenderratten auf die künstliche Perfusion durchwegs mit einer starken Vasoconstriction reagierten. Nach Anaesthesierung mit Chloralose unterblieb die Vasoconstriction.

Auf einen weiteren positiven Effekt der Chloralose weist GINSBURG (43) hin: die ADH-Aktivität im Serum nach einer 15%igen Hämorrhagie, wie sie bei der Präparation der Nieren häufig nicht zu umgehen ist, steigt bei Chloralosenarkose im Gegensatz zu Aether-, Pentobarbital- und Ethanol-Narkosen nicht an.

Die Stärke der Alteration der Nierenfunktion bei der Präparation kann nur abgeschätzt werden. DOUGHERTHY (35) vermutet eine Umverteilung der Nierendurchblutung während der Präparation.

Da elektronenmikroskopische Untersuchungen von SOLLINGER (23) am gleichen Modell als Nebenbefund zeigten, daß eine Heparinisierung des Spendertieres durch Injektion in die Vena cava an Stelle der Aorta für das Endothel der Nierengefäße schonender ist, wurde die Methodik gegenüber v. Liebe und Schilling in diesem Punkt geändert. MESSMER (80) gibt für die Perfusion von Hundenieren eine Kanülierungstechnik an, die eine kontinuierliche Perfusion der Niere ohne Flowunterbrechung gestattet. Diese Methode ist bei den Größenverhältnissen der Ratte sehr erschwert; darum mußte bei dem angegebenen Verfahren eine Anoxie von 3 - 5 Minuten in Kauf genommen werden.

Bei klinischen Transplantationen sind die Hypoxiezeiten wesentlich größer als im vorliegenden Modell. Jedoch führen auch Hypoxiezeiten von 3 - 5 Minuten zu funktionellen Veränderungen. Besondere Bedeutung kommt einer starken Widerstandserhöhung zu, da sie die schnelle Steigerung des Perfusionsvolumens in den ersten fünf Minuten nach Occlusionsende verhindert.

HINSHAW (50) beobachtet bei normothermer Flowunterbrechung über denselben Zeitraum eine postocclusive Ischämie, die er auf das lokale Freiwerden adrenerger Substanzen zurückführt.

BASAR (9) macht lokal freigesetzte oder aus dem Plasma stammende adrenerge Substanzen für die zweite, nicht myogene Phase der Autoregulation der Niere verantwortlich; BAUMGARTEN (10) bestätigt in diesem Zusammenhang ein vasoaktives Prinzip, hält aber eine Wirkung des Angiotensinmechanismus für wahrscheinlicher.

Möglicherweise ist die posthypoxische Ischämie der perfundierten Nieren durch Überregulation der zweiten Autoregulationsphase verursacht, hervorgerufen durch die Anhäufung vasoactiven Materials. Diese Überregulation verliert sich mit dem Auswaschen der vasoactiven Substanzen, und im weiteren Verlauf kann das Perfusionsvolumen gesteigert werden.

Inwieweit es durch Anoxie und Hypoxie zu einer Schädigung der Nierenzellen mit Auswirkungen speziell auf die Autoregulation kommt, kann nur annähernd geklärt werden. Nach FRALEY (39) ruft eine normotherme Anoxie über 15 Minuten progrediente Schäden an den Polyribosomen hervor. Als deren Folge kommt es zum aktiven enzymatischen Abbau des Nierenzytoplasmas. LEICHTWEISS (67) fand ein Erliegen der Autoregulation nach einer Anoxie von über 10 Minuten.

Verglichen mit diesen Befunden aus der Literatur, lassen die von uns benötigten Anoxiezeiten die Annahme zu, daß es im vorliegenden Modell kaum zu einer hypoxisch bedingten Schädigung des Nierenparenchyms mit Auswirkungen auf die Autoregulation gekommen sein dürfte.

Bei der Durchführung der Vorversuche fiel uns während einer Experimentierphase im Hochsommer auf, daß eine große Zahl von Nieren eine Verlängerung der posthypoxischen Minderdurchblutung zeigt. Ob diese Minderdurchblutung durch die Herabsetzung der Nierendurchblutung infolge einer durch Exsiccation bedingten Aktivierung des sympathischen und des Angiotensin-Renin-Systems hervorgerufen wird, muß offen bleiben.

Um von Veränderungen im Wasserhaushalt der verwendeten Tiere unabhängig zu sein, verabreichten wir den Spenderratten auf Empfehlung von A. BAETHMANN (7) 45 Minuten vor Beginn der Präparation per Magensonde 5 ml/100g KG 0,45% NaCl-Lösung. Durch diese Maßnahme sollte für alle Nieren eine annähernd gleiche Durchblutungs- und Konzentrationssituation geschaffen werden. Es kommt über die Hemmung der ADH-Sekretion (117) und die Erhöhung der Markdurchblutung (132) zur vorübergehenden Expansion des EZR mit anschließender Wasserdurese.

EARLEY (36) beschreibt eine Steigerung der Nierendurchblutung nach Zunahme des EZR, die zum Teil auf eine Zunahme der Markdurchblutung zurückzuführen ist. THURAU fand in Wasserdurese eine Zunahme der Markdurchblutung um 70%.

Die sich aus der Problematik des Perfusionssystems ergebenden Fragen hat A. SCHILLING (116) bereits ausführlich behandelt. Es seien noch einige Ergänzungen angefügt.

In der Frage des Systemvolumens folgten wir NIZET (93) und BERKOWITZ (15), die das dreifache Minutenvolumen der Nierendurchblutung als Maximalwert angaben. Bei größeren Systemvolumina kommt es infolge mangelhafter Ausscheidung und konsekutiver Anhäufung vasoactiven Materials zur Vasoconstriction im perfundierten Organ. Für diese Überlegung fällt nur der Vollblutanteil der Systemfüllung ins Gewicht. Weil vasoaktive Substanzen nur im Stoffwechsel der Blutbestandteile entstehen, ist die Auffüllung mit Ringerlösung für die Entstehung vasoactiver Substanzen ohne Bedeutung.

Da die Perfusionsvolumina bei den verschiedenen Kollektiven sehr starken Schwankungen unterliegen, ist die Forderung NIZETs im vorliegenden Modell nur annähernd durchführbar. Sie ist bei einem Perfusionsvolumen von 3 - 4 ml/g.min erfüllt. Sinken die Perfusionsvolumina unter diesen Wert, muß die Wirkung vasoactiver Substanzen bei der Beurteilung weiterer Durchblutungs einschränkungen in Rechnung gestellt werden.

4.2.2 Physiologische Charakterisierung der Versuchsanordnung

Zur genauen Charakterisierung der vorliegenden Versuchsanordnung soll das Verhalten folgender Parameter betrachtet werden:

1. Nierendurchblutung,
2. GFR,
3. Konzentrationsfähigkeit,
4. Gewichtszunahme.

Als Grundlage dienen die Kontrollversuche mit Rattenvollblut. ad 1.) THURAU (132) gibt nach der Literatur für isolierte Nieren eine Durchblutung von 50% der Nierendurchblutung in vivo an. Diese Durchblutungseinschränkung wird auf eine Vasoconstriction der afferenten Nierengefäße zurückgeführt (79), die womöglich irreversibel ist (132). Nimmt man für die Nierendurchblutung in vivo bei der Ratte einen Normalwert von 6 ml/g·min an, so entspricht eine Verminderung auf 3,1 - 3,9 ml/g·min den von THURAU zitierten Werten, bzw. liegt etwas darüber. Gegen Ende der Perfusion dürfte die Erniedrigung der Nierendurchblutung auf die perfusionsbedingte Zerstörung von Thrombozyten und das dadurch bedingte Ansteigen des Serotoninspiegels zurückzuführen sein (114). Serotonin ruft an den Nierengefäßen Vasoconstriction hervor (40). Ob und wie weit sich dieser Vasoconstriction eine Vasodilatation auf Grund von fehlendem Substrat für Renin (15) überlagert, kann hier nicht geklärt werden.

ad 2.) Mit der Verminderung der Nierendurchblutung geht eine Einschränkung des Glomerulumfiltrates (GFR) einher. MESSMER (80) fand bei isolierten Nieren immer eine Einschränkung der GFR. Im Gegensatz dazu lag die GFR bei den Versuchen NIZET's (98) im Normalbereich.

Im geschlossenen System und bei unbekannter Ausscheidungsrate ergaben sich methodische Schwierigkeiten bei der Bestimmung der GFR. Deshalb konnten bisher erst Vorversuche mit C^{14} Inulin durchgeführt werden. Die dabei gefundenen Werte von 0,54 ml/g·min entsprechen in etwa 50% des Normalwertes.

ad 3.) Die Konzentrierfähigkeit der Niere ist an die Anwesenheit des

Antidiuretischen Hormons (ADH) gebunden. ADH wird von der Hypophyse auf die Reize der Volumenverminderung und der Erhöhung des osmotischen Drucks sezerniert (120).

Im isolierten System wird ein konzentrierter Urin nur nach Zugabe von ADH ausgeschieden (93), oder es kommt durch Verbrauch des anfangs vorhandenen Hormons im Verlauf der Perfusion zum Absinken des U/P osmol unter 1. Bei der vorliegenden Versuchsanordnung befinden sich die Nieren am Versuchsbeginn im Zustand der Wasserdurese. Wie zu erwarten, liegt der U/P osmol bei allen Versuchen im Bereich von 1, was der Ausscheidung eines isotonen Urins entspricht. Eine Aussage über die Konzentrationsfähigkeit der perfundierten Niere kann also nicht gemacht werden.

ad 4.) Besondere Bedeutung kommt neben der Nierendurchblutung der Gewichtszunahme zu. Eine Gewichtszunahme durch Ödembildung wird bei der Transplantatabstoßung in vivo als Abstoßungszeichen gewertet.

In dieser Versuchsanordnung kommen dafür mehrere Gründe in Frage: Die Hypoxie beim Einbringen in das isolierte System führt zur Schädigung des Natriumtransportmechanismus; nonpulsatile Nierenperfusion ruft eine wesentlich stärkere Organschwellung als pulsatile Perfusion hervor (96).

Wie SCHILLING (116) schon erwähnte, ist die Perfusion in unserem System mit einer Pulsamplitude von 14 mm Hg als nahezu kontinuierlich zu bezeichnen. Auch dieser Umstand dürfte für die Ausbildung eines Ödems in diesem Perfusionssystem von Bedeutung sein.

Die wichtigste Rolle bei der Ausbildung eines Ödems spielt jedoch mit Sicherheit der fehlende oder verminderte Kolloidosmotische Druck (KOD). In eigenen Untersuchungen (3) fanden wir, daß das Nierengewicht bereits nach Beendigung der Vorperfusion um ca. 50% zugenommen hatte. Diese Zunahme wurde bis zum Perfusionsende nur geringfügig gesteigert. Das erklärt sich aus der fehlenden kolloidosmotischen Aktivität der bei der Vorperfusion verwendeten Ringerlösung. Infolgedessen kommt es zum Wassereinstrom ins Gewebe und das Ödem kann nicht zurückgebildet werden, weil das Perfusat mit Ringerlösung diluiert wird und der KOD weiterhin erniedrigt bleibt.

In dem von uns beobachteten Zeitraum ist die Gewichtszunahme während der Perfusion im vorliegenden System also unspezifischer Natur und kann nicht zur Beurteilung einer Abstoßungsreaktion hinzugezogen werden. Außerdem muß bei der Beurteilung der physiologischen Wertigkeit und bei der Diskussion des Verhaltens der Nierendurchblutung im Auge behalten werden, daß die Gewichtszunahme einen senkenden Effekt auf die Nierendurchblutung hat (130, 132).

Wie jede Versuchsanordnung beeinträchtigt auch die isolierte Perfusion die funktionale Integrität des perfundierten Organs. Durch Kontrollexperimente wurde versucht, die gewiß starken Schäden an den perfundierten Nieren abschätzbar zu machen, um das zur Klärung der immunologischen Fragestellung hervorragend geeignete Modell in einen definierten physiologischen Rahmen einordnen zu können. Dabei ergab sich, daß Parameter wie Nierendurchblutung und Urinausscheidung, die für die Beurteilung der HXAR im vorliegenden Modell entscheidend waren, soweit intakt sind, daß das Modell für die Untersuchung der HXAR in diesem Ausmaß geeignet erscheint.

4.2.3. Problematik der Perfusatpräparation

Verschiedene Autoren (12, 13, 135) beschreiben bei Hämoperfusion eine Widerstandserhöhung nach Bluteintritt in das perfundierte Organ. VETTO (135) unterscheidet dabei eine erste Erhöhung des Nierenwiderstandes nach fünf Minuten und eine zweite nach 20 - 40 Minuten. In beiden Fällen hält er eine Thrombozytenwirkung für wahrscheinlich.

Um derartige, unspezifische Widerstandserhöhungen zu vermeiden, wurde bei der Präparation der Perfusate das in der Methodik geschilderte Vorgehen gewählt.

Dabei sind grundsätzlich zwei Arten der Perfusatvorbereitung zu unterscheiden:

1. Vollblutperfusate
2. Perfusate mit Zellpräparation

zu 1.: Auf den Reiz der Volumenverminderung reagiert die Entblu-

tungsrate mit Volumen-erhaltenden Mechanismen; durch die Aktivierung des adrenergen Systems kommt es zur Ausschüttung vasoaktiver Substanzen. Nach BOLLMAN (18) kommt es bei Blutverlusten über 18% des Blutvolumens zu einem Anstieg vasoaktiver Amine, besonders des Adrenalin, der bei weiterem Entbluten zunimmt.

Am Hund wurde in vivo (76) und in vitro (107) eine Verminderung der Nierendurchblutung nach Adrenalininjektionen in physiologischen Dosen beschrieben. COUCH (34) beobachtete bei der homologen Perfusion von Hundenieren einen starken Widerstandsanstieg, den er als Folge einer Adrenalinfreisetzung deutet.

Zur direkten Wirkung von Adrenalin auf die Gefäßmuskulatur kommt möglicherweise noch die Thrombozyten aggregierende Wirkung des Epinephrin. Nach MILLS (82) verursacht Epinephrin über die Freisetzung von ADP eine Agglutination von Thrombozyten. MARQUIS (77) nimmt dabei eine Beteiligung des 3,5-AMP an, weil ihre Oberfläche nach Freisetzung des ADP ihre desaggregierende Eigenschaft verliert.

Weiterhin steigt bei Blutverlust der ADH-Spiegel an (117, 121) und zwar nach HEIDENREICH (46) um das 1 000-fache der antidiuretisch-wirksamen Dosis, so daß die vasokonstringierende Komponente des Antidiuretin überwiegt.

Es bietet sich an, die Widerstandserhöhung zu Beginn der homologen Perfusion im Sinn dieser beiden Mechanismen zu interpretieren.

Diese Erwägungen entfallen bei der Perfusion mit Hundevollblut, da eine Blutentnahme von so geringem Ausmaß beim Hund keinen adäquaten Reiz zur Volumenausschüttung darstellt.

zu 2.: Bei den Kollektiven mit getrennter Untersuchung der einzelnen Zell- und Serumanteile (s.a. SCHILLING, Inaug. Diss. 116) werden die Blutbestandteile zwischen Blutabnahme und Perfusionsbeginn länger dauernden Prozeduren unterworfen. Um eine Freisetzung vasoaktiver Substanzen, insbesondere von ADP, durch Lagerung zu verhindern (61), wurden die Zellen nach jedem Arbeitsgang mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschen.

HANSSON (45) weist auf die hohe Anfälligkeit des Nierengefäßsystems für durch Thrombozytenaggregation verursachte Widerstandserhöhung

gen hin. Die Aggregation von Thrombozyten ist ein komplexes Geschehen, das durch verschiedene Substanzen ausgelöst werden kann. Eine Schlüsselrolle kommt hier dem ADP zu: Bei Kontakt mit Thrombin, Serotonin oder Adrenalin wird ein aktiver Prozeß in Gang gesetzt, der diese Substanzen durch die Thrombozytenmembran transportiert. ATP wird zu ADP, das die Aneinanderlagerung von Thrombozytenmembranen begünstigt (5, 82, 131). Das Adrenalin übt auf diesen Vorgang einen steigenden Einfluß aus (77). Besonders leicht kann es bei der Thrombozytenpräparation zur Serotoninfreisetzung kommen, weil praktisch der gesamte Blutgehalt an Serotonin in den Thrombozyten enthalten ist (114).

Da es sich hier um unspezifische zelluläre Grundmechanismen handelt, die auch bei der HXAR wirksam werden, war eine sehr schonende Präparation besonders der Thrombozyten, getrennt von den zellulären Blutbestandteilen erforderlich, um präparationsbedingte Veränderungen des Perfusates zu vermeiden, die an der Niere eine Abstoßungsreaktion vorgetäuscht hätten.

4.3 Interpretation der Ergebnisse

I. Allgemeine Besprechung des Verhaltens der Perfusionsvolumina (Vp)

1. Vp zu Beginn der Hauptperfusion:

Bei Bluteintritt in das perfundierte Organ lagen die Perfusionsvolumina aller Kollektive in einem Bereich zwischen $3,3 \pm 0,3$ bis $3,8 \pm 0,5$ ml/g·min.

Nieren, die am Ende der Vorperfusion einen Vp unter aufwiesen, wurden nicht weiter perfundiert.

2. Absinken des Vp in den ersten fünf Minuten:

Außer den Perfusionen mit Gelifundol (GE, GEZ) zeigen alle Kollektive in den ersten fünf Minuten ein Absinken der Perfusionsvolumina.

a) Das Absinken der Perfusionsvolumina beginnt mit Perfusateintritt und steigert sich bis zur 5. Minute. Das Perfusat tritt nicht sofort in

stärkster Konzentration in das Organ ein, sondern vermischt sich auf dem Weg durch das Perfusionssystem mit der darin vorhandenen Ringerlösung. Erst nach 5 - 10 Minuten dürfte im perfundierten Organ diejenige Konzentration vorhanden sein, die während der Perfusion konstant bleibt. So besteht eine Parallelität zwischen dem Ansteigen der Perfusatkonzentration und dem Absinken des Perfusionsvolumen. Als ursächlich dafür wäre zum einen die Viskositätszunahme durch Proteine und Zellen im Perfusat anzunehmen.

Zum anderen spielt die Konzentration von vasoaktivem Material eine Rolle. Das zeigt sich am deutlichsten bei der Perfusion mit iRSZ: Hier addieren sich die Effekte einer relativ lang dauernden Präparation des Perfusates und der Ausschüttung vasoaktiver Amine und Peptide bei der Entblutung der Ratte.

Mit einem immunologischen Vorgang im Sinne einer Abstoßung läßt sich der Abfall der Perfusionsvolumina in den ersten 5 Minuten nicht erklären, da er unabhängig von der Art des immunologischen Verhältnisses von Niere und Perfusat beobachtet wird.

b) Das Fehlen der Verminderung der Perfusionsvolumina bei Perfusion mit GE und GEZ dürfte in der schon von A. SCHILLING (116) erwähnten besonderen Fließeigenschaft des Gelifundol gegenüber Serum und im Fehlen des vasoaktiven Materials begründet sein.

3. Anstieg des Vp von der 10. Minute an:

Nach dem Abfall bei 5 Minuten steigen die Perfusionsvolumina in allen Kollektiven wieder an, weil es nach der initialen Vasokonstriktion allmählich wieder zur Öffnung der Nierenstrombahn kommt.

a) Rattenvollblut und inak. Rattenserum + alle Zellen (RV, iRSZ). Die Steigerungen der Perfusionsvolumina entsprechen sich, wenn man bedenkt, daß bei iRSZ der starke Abfall bei 5 Minuten ausgeglichen werden muß.

b) Hundevollblut und aktives Hundeserum + Erythrozyten (HV, aHSE). Bis zur 25. bzw. 20. Minute liegt der Anstieg im Bereich der Kontrollen. Danach sinken die Perfusionsvolumina wieder ab. Daraus ergibt sich, daß der Verlauf von Vp in den ersten 25 Minuten nicht zur Beurteilung einer Abstoßungsreaktion herangezogen werden kann.

c) Inakt. Hundeserum + Erythrozyten und inakt. Hundeserum + alle Zellen (iHSE, iHSZ). Der Anstieg der Perfusionsvolumina liegt hier von der 25. Minute bis zur 35. bzw. 45. Minute signifikant über den beiden Kontrollserien.

d) Auch die Kollektive der Perfusionen mit Gelifundol erreichen teilweise höhere Anstiege als die Kontrollen.

zu c) und d): In beiden Fällen übersteigt der Anstieg von Vp die Kontrollwerte. Bei den Perfusionen mit Gelifundol dürften hierfür wieder die Fließeigenschaften des Gelifundol verantwortlich sein; bei GEZ spielt möglicherweise die durch Gelifundol herabgesetzte Agglutinationsneigung der Thrombozyten eine Rolle (48).

Um zu klären, ob die Erhöhung von Vp bei iHSE und iHSZ auf einen allgemeinen, nicht immunologischen Effekt von Serum zurückzuführen sei, wurden die Versuche mit iRSZ durchgeführt. Aus ihrem Verlauf ergibt sich, daß der Anstieg von Vp bei iHSE und iHSZ von der 10. Minute an vom Vorhandensein xenogenen Serums abhängig und möglicherweise immunologischer Natur ist.

4. Abnahme von Vp in der zweiten Hälfte der Perfusion:

a) RV, iRSZ. Von der 60. bzw. 85. Minute an nehmen die Perfusionsvolumina auch in den Kontrollserien kontinuierlich ab, sinken jedoch nicht unter 2,4 ml/g·min. Diese Verminderung von Vp um 37% bzw. 20% des Maximalwertes muß als perfusionsbedingt angesehen werden, hervorgerufen durch den Anstieg des Serotoninspiegels als Folge der Zerstörung von Thrombozyten durch die Rollerpumpe (40, 114).

b) HV. Nach der 25. Minute überlagert die durch das xenogene Abstoßungsgeschehen bedingte Verminderung von Vp die Zunahme der Nierendurchblutung, die auf die anfängliche Vasokonstriktion folgte. Vp fällt weiter rasch ab; in der 50. Minute wird der Grenzwert der funktionellen Perfusion unterschritten. Dieser Abfall, der in der 60. Minute bei Versuchsende 73% des Maximalwertes beträgt, stellt im vorliegenden Modell im Hinblick auf die Nierendurchblutung das Vollbild einer Abstoßungsreaktion dar.

c) aHSE. Gegenüber den Perfusionen mit HV treten bei Perfusionen mit aHSE zwei Veränderungen im Perfusionsverlauf auf:

- Die Verminderung von V_p beginnt früher als bei Perfusion mit HV. Diese Veränderung ist nicht signifikant; sie ist unter Umständen mit den präparationsbedingten Veränderungen des aktiven Hundeserums erklärbar.
- Die Abnahme von V_p verläuft langsamer; V_p erreicht erst in der 120. Minute seinen untersten Wert von $0,3 \text{ ml/g} \cdot \text{min}$. HV und aHSE unterscheiden sich im Vorhandensein von Fibrinogen und Heparin, Leukozyten und Thrombozyten. Bei diesen Faktoren ist die Ursache für den unterschiedlichen Perfusionsverlauf zu suchen.

c) iHSE, iHSZ. In der 30. Minute ist der gegenüber den Kontrollen verstärkte Anstieg von V_p beendet, und die Nierendurchblutung nimmt von diesem Zeitpunkt an ab. Während iHSE bei 120 Minuten mit $2,4 \text{ ml/g} \cdot \text{min}$ im Bereich der Kontrollen bleibt, liegt iHSZ von der 115. Minute an mit $1,5 \text{ ml/g} \cdot \text{min}$ signifikant darunter. Der Grund für dieses unterschiedliche Verhalten muß im unterschiedlichen Gehalt an Leukozyten und Thrombozyten liegen.

d) GE. Bei Perfusion mit Gelifundol und Erythrozyten wird der sehr hohe Anstieg von V_p besonders früh beendet.

Eine Erklärung hierfür ist schwer zu finden und verliert sich überdies im Bereich des Spekulativen. Denkbar ist eine Reaktion der Niere auf die hohe Durchblutung, die mit einer erhöhten Natriumkonzentration im Bereich der Macula densa einher geht.

Bei 120 Minuten liegt V_p von GE und GEZ mit $2,4$ und $3,0 \text{ ml/g} \cdot \text{min}$ im Bereich der Kontrollen; GEZ liegt signifikant über iHSZ.

5. Die Änderungen von V_p nach Zugabe zerstörter Zellen:

a) Gelifundol + Erythrozyten + zerstörte Thrombozyten (GEzT).

Bis zur Zugabe der Testsubstanz entspricht der Verlauf von V_p den Perfusionen mit Gelifundol. Danach kommt es innerhalb weniger Minuten zum Absinken des Perfusionsvolumens unter $0,3 \text{ ml/g} \cdot \text{min}$, so daß die Versuche abgebrochen wurden. Diese rapide Abnahme des Perfusionsvolumens spricht für die Wirkung einer vasoaktiven Substanz; eine Verstopfung der Nierenstrombahn durch Thrombozytenmembranen kann nach der Ultrazentrifugation der zerstörten Thrombozyten ausgeschlossen werden.

b) Gelifundol + Erythrozyten + zerstörte Leukozyten (GEzL).

Auch hier fällt Vp nach Zugabe der Testsubstanz schnell ab. Diese Abnahme des Perfusionsvolumens ist jedoch passagerer Natur, und Vp steigt wieder auf Werte im Kontrollbereich an. Eine vasoaktive Substanz ist auch hier als Ursache anzunehmen. Ungeklärt bleibt, ob sie aus den zerstörten Leukozyten oder aus Verunreinigungen mit Thrombozyten stammt, die sich bei dieser Art der Präparation nicht vermeiden lassen. Für die letztere Annahme spricht, daß bei Voruntersuchungen zu GEzT bei Verwendung von kleineren Thrombozytenmengen reversible Erniedrigungen von Vp beobachtet wurden.

II. Interpretation der Urinproduktion

Im allgemeinen entspricht die Urinproduktion dem Verlauf der Perfusionsvolumina; die dort diskutierten Veränderungen finden sich auch hier. Doch wurden bei der Urinproduktion keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Kollektiven gefunden, was mit der Ungenauigkeit der Meßmethode zusammenhängen mag.

Hämaturie: Eine starke Hämaturie wurde bei Versuchen mit ausgeprägtem Abstoßungscharakter gefunden (HV, aHSE).

Ein interessanter Befund ist das Auftreten einer Hämaturie nach Zugabe des Überstandes von zerstörten Leukozyten.

Nach einer anfänglichen Mikrohämaturie kommt es gegen Versuchsende zur Makrohämaturie (GEzL).

Schlußfolgerungen

Aus dieser Interpretation ergeben sich die nachstehenden Folgerungen, die in einer eingehenden Diskussion weiter besprochen werden sollen:

1. Bei der Perfusion mit HV liegt Vp bis zur 25. Minute im Normalbereich, dann kommt es zu einer schnellen Abnahme der Nierendurchblutung, die im vorliegenden Modell das Vollbild einer Abstoßung darstellt.
2. Entzieht man dem xenogenen Vollblutperfusat die Leukozyten und Thrombozyten, so verlängert sich die Abstoßungsdauer von 60 auf 120 Minuten.
3. Perfundiert man umgekehrt mit xenogenen Zellen und ersetzt das Serum durch Gelifundol, so liegt Vp während der gesamten Versuchsdauer im Bereich der Kontrollwerte oder darüber.
4. Bei Hitzeinaktivierung des Komplementsystems ergeben sich folgende Veränderungen im Perfusionsverlauf:
 - a) Hitzeinaktiviertes Serum und Erythrozyten $\pm$ Leukozyten und Thrombozyten verursacht keine hyperakute Abstoßung.
 - b) Bei iHSE findet sich von der 25. bis 35. Minute und bei iHSZ von der 35. bis 45. Minute eine signifikante Erhöhung von Vp gegenüber den Kontrollperfusionen mit iRSZ.
5. a) Die Perfusion mit iHSE ergibt in der Schlußphase signifikant niedrigere Werte für Vp als die Perfusion mit GEZ.
- b) Die Perfusion mit xenogenen Serum, Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten liegt in den Werten von Vp am Versuchsende signifikant unter den Perfusionen ohne Leukozyten und Thrombozyten.
6. Der Überstand zerstörter Thrombozyten verursacht, wenn er bei einer neutralen Perfusion mit GE ins Perfusionssystem gegeben wird, einen schlagartigen Abfall von Vp und führt zur Beendigung des Versuchs.
7. Der Überstand zerstörter Leukozyten bewirkt nach einem vorübergehenden Absinken von Vp eine Mikrohämaturie, die sich zur Makro-

hämaturie steigert.

8. Im vorliegenden Modell läuft die HXAR auch ohne intaktes Gerinnungssystem ab.

4.4 Diskussion der Ergebnisse

D 1

Der Befund, daß der Verlauf von Vp bis zur 25. Minute den Rattenkontrollen folgt, widerspricht eigenen histologischen Voruntersuchungen (101). Dabei wurden Rattennieren nach dem angegebenen Verfahren mit Hundevollblut perfundiert. Die Versuche wurden nach 5, 3, 1 Minute abgebrochen. Die histologische Untersuchung ergab, daß bereits nach einminütiger Perfusion mit Hundevollblut histologische Anzeichen für eine in Gang gekommene Abstoßungsreaktion auftreten.

Zur Erklärung dieser zeitlichen Diskrepanz zwischen histologischem Befund und Perfusionsverlauf gibt es zwei Möglichkeiten:

Auf den Eintritt des Hauptperfusates reagiert die Niere unspezifisch mit einer Vasokonstriktion. In dieser Phase ist der Kontakt des xenogenen Perfusates mit dem Nierenendothel stark eingeschränkt. Darauf dilatieren die Nierengefäße wieder. Jetzt wird ein ausgedehnter Kontakt zwischen Perfusat und Niere möglich. So kommt es zum abstoßungsbedingten Absinken von Vp erst dann, wenn die ganze Nierenstrombahn dem xenogenen Perfusat ausgesetzt ist, und wenn die Abnahme von Vp nicht mehr durch die dem Perfusionsstadium entsprechende Vasodilatation kompensiert wird. Zum anderen ist zu überlegen, ob die Abstoßungsreaktion im molekularen Bereich auch sofort von einer Einschränkung der Nierendurchblutung begleitet wird, oder ob die Abnahme von Vp erst durch langsam ablaufende Sekundärreaktionen bedingt ist.

Der ab der 25. Minute einsetzende rapide Abfall der Nierendurchblutung entspricht dem Ablauf einer hyperakuten Abstoßungsreaktion, wie in der Literatur angegeben wird (27, 69, 73, 81, 86, 90).

Bemerkenswert ist, daß dieser Abfall von Vp auch bei Anwendung von Heparin auftritt. Dieses Phänomen soll unter D 8 diskutiert werden. Auch die in der Literatur sofort aufgeworfene Frage nach der Ursache der schnellen Durchblutungsminderung (26, 59, 75, 99, 111) - mechanische Verstopfung oder vasomotorisch indiziertes Geschehen - kann erst im weiteren Verlauf der Abhandlung diskutiert werden.

D 2

Das xenogene Perfusat bewirkt auch ohne Leukozyten und Thrombozyten in der Rattenniere ein Sistieren der Durchblutung. Allerdings ist das Abstoßungsgeschehen wesentlich verlängert. Nach PARDO (97) können Erythrozyten und Vollplasma eine hyperakute Abstoßungsreaktion verursachen. Das entspricht den Befunden von MOBERG und MOZES (83, 84), daß die HXAR ohne Leukozyten und Thrombozyten vollständig abläuft, wenn Antikörper und Complement anwesend sind. Die Erythrozyten spielen für die Abstoßung keine Rolle.

LINN (69) fand bei zellfreier Perfusion mit Nativserum einen Widerstandsanstieg im perfundierten Organ.

Folgende Theorien seien zur Erklärung einer allein durch Antikörper und Complement hervorgerufenen Widerstandserhöhung angeführt:

Schon 1938 beobachtete ABBELL (1) in vivo bei sensibilisierten Tieren eine Vasokonstriktion nach Fremdeiweißgabe. Er versuchte, diesen Befund mit den Ergebnissen E. GROVES zu erklären. Mit dem hier vorliegenden Befund decken sich seine Beobachtungen jedoch nicht, da bei seiner Versuchsanordnung natürlich Leukozyten und Thrombozyten vorhanden waren, wenngleich er ihre Bedeutung für seinen Befund nicht in Betracht zieht. GROVE (41) berichtet, daß sich Spiralstreifenpräparate von Kaninchenarterien nach Zugabe von antikörperhaltigem Serum kontrahieren. Eine Hypothese für den Wirkungsmechanismus wird nicht angegeben; der Befund konnte von PERPER (100) nicht bestätigt werden. Die Auffassung von RETIK (106) und HOROWITZ (53), daß in der Gefäßwand lokalisierte Antigen-Antikörperkomplexe eine lokale Thrombose induzieren und so eine Abnahme der Nierendurchblutung verursachen, dürfte wohl kaum für die hyperakute Abstoßung Bedeutung haben.

JENSEN (59) u.a. (69, 83) sieht im Anaphylatoxin die für die frühe Widerstandserhöhung verantwortliche Substanz, während Leukozyten und Thrombozyten nur untergeordnete Bedeutung gegeben wird. Anaphylatoxin ist eine hitzebeständige Substanz mit einem Molekulargewicht von 15 000, die aus Plasma durch einen Lauf über eine Säule aus Sephadex G 75 gewonnen werden kann. Es bewirkt die Kontraktion glatter Muskulatur und steigert die Gefäßpermeabilität. In vivo

entsteht Anaphylatoxin bei der Antigen-Antikörper-Reaktion im Zuge der Komplementaktivierung (59). Die vasoaktive Wirkung ist reversibel, wenn die Substanz wieder ausgewaschen wird.

Gegen die alleinige Wirkung von Anaphylatoxin und ähnlichen Serumbestandteilen als verursachendes Prinzip bei der HXAR spricht der reversible Charakter der durch Anaphylatoxin hervorgerufenen Vaso-
konstriktion. Auch konnte LINN (69) bei Perfusion mit zellfreiem Nativserum erst nach 30 Minuten Endothelschäden nachweisen, die bei Verwendung von Vollblut bereits nach wenigen Minuten Perfusionsdauer gesehen werden (96).

D 3

Die Perfusion mit Gelifundol und Zellen sollte abklären, ob xenogene Zellen ohne Serumbestandteile einen Einfluß auf die Durchblutung der isoliert perfundierten Rattenniere ausüben können. Dabei hat sich das Gelifundol nicht als ideales Basisperfusat erwiesen, da es ausgeprägte Eigeneffekte auf die Nierendurchblutung zeigt (s.o.). Weil sich diese Effekte aber vor allem bei Perfusionsbeginn bemerkbar machen, während V_p in der 2. Hälfte der Perfusion im Kontrollbereich liegt, kann man aus dem Verhalten von V_p bei Perfusionsende wohl doch den Schluß ziehen, daß xenogene Zellen allein nicht in der Lage sind, die HXAR einzuleiten.

D 4

Die Steigerung von V_p über die Kontrollwerte bei Perfusion mit inaktiviertem Hundeserum von der 25. bis zur 45. Minute, scheint durch einen Bestandteil des xenogenen Serums hervorgerufen zu werden, der unabhängig von der Aktivierung des Komplementsystems wirksam wird.

D 5

Die Bedeutung eines aktivierbaren Komplementsystems für die HXAR ist in der Literatur unumstritten. Der hier erhobene Befund bestätigt die Ergebnisse von JENSEN, LINN, MOBERG und MOZES (59, 69, 83, 86), daß hitzeinaktiviertes Serum nicht in der Lage ist, eine hyper-

akute Abstoßung hervorzurufen.

SNYDER (125) konnte die Transplantatüberlebenszeit verlängern, wenn er einen bei der Arthusreaktion wirksamen Komplementblocker verwendete.

Weitere Differenzierungen ergeben sich hier in Bezug auf die zelluläre Beteiligung. Die signifikant erhöhten Werte von Vp bei Perfusion mit GEZ gegenüber iHSZ ab der 105. Minute lassen sich nicht mit Sicherheit von einem Gelifundoleffekt abgrenzen. Fundierter aber ist der Befund, daß Vp von iHSZ im Gegensatz zu iHSE ab der 115. Minute die Kontrollwerte signifikant unterschreitet.

Aus diesen Befunden kann man auf eine Beteiligung der Leukozyten und Thrombozyten an der HXAR schließen. Es soll untersucht werden, über welche Mechanismen diese Beteiligung möglich ist.

D 2 - D 5

Von mehreren Autoren wird ein an die Anwesenheit von Leukozyten und Thrombozyten gebundener Mechanismus als entscheidend für den Abstoßungsvorgang bei der HXAR angesehen (27, 111, 112). Die experimentelle Basis für diese Annahme ergab sich u.a. aus dem Befund, daß bei einer xenogenen Nierentransplantation die Thrombozytenzahl im Nierenvenenblut bereits in der 1. Minute absinkt (111), und daß die Thrombozyten gleichzeitig im transplantierten Organ (71, 72), speziell in der Nierenrinde (28, 81) gespeichert werden. CLAES (27, 28) beschreibt eine intravasale Agglutination von Thrombozyten und die Ausschwemmung von Agglutinaten im Nierenvenenblut. Auch bei hyperakut abgestoßenen Hauttransplantaten wurden innerhalb der ersten zehn Minuten Thrombozytenaggregate beobachtet (70). ROSENBERG (111) und MARCEAU (75) fanden eine Parallelität zwischen dem Absinken der Thrombozytenzahl und der Abnahme der Nierendurchblutung. Einige Autoren (31, 55, 73, 75) machen genauere Zahlenangaben: Nach CLARK werden im transplantierten Organ 70% der arteriell zugeführten Leukozyten und 90% der Thrombozyten verbraucht. ROSENBERG (112) differenziert, daß von den weißen Blutzellen hauptsächlich polymorphkernige neutrophile Leukozyten (PMNL) retiniert werden.

Die Literatur legt der Aufnahme von Leukozyten und Thrombozyten

durch das Spenderorgan einen komplizierten Mechanismus zu Grunde: Antigen, Antikörper, Komplement und PMNL reagieren in einer bestimmten Reihenfolge von Reaktionsschritten miteinander (31, 74). Zuerst lagern sich die heterologen Antikörper unter Beteiligung des Complementsystems an die in den Basalmembranen der Endothelzellen lokalisierten Antigene an (58).

Ungeklärt ist, wieweit dieser Prozeß ohne Complement ablaufen kann.

Darauf kommt es zum Kontakt zwischen Antigen-Antikörper-Komplexen einerseits und Leukozyten und Thrombozyten andererseits, wobei sich Agglutinate bilden (26, 47, 55, 85).

JENSEN (59) konnte eine Phagozytose der Antigen-Antikörper-Komplexe durch PMNL und eine darauffolgende Gefäßabstruction beobachten, ohne daß er deren genaueren Ablauf klären konnte. LOWENHAUPT (70, 72) sah im Elektronenmikroskop Thrombozytenagglutinate häufig direkt an den Endothelzellen lokalisiert und konnte auch den Kontakt zwischen Endothel und Thrombozyten über Pseudopodien der Thrombozyten nachweisen. Dabei deuten Granula in den Thrombozyten auf die bevorstehende Freisetzung von vermutlich vasoaktiven Substanzen hin (71). Auch in den PMNL werden Granula beobachtet, die mit den Thrombozytengranula vergleichbar sind (89). Nach wenigen Minuten folgt die Degranulation der Zellen (4). Nach HENSON (47) führt der Kontakt von Thrombozyten mit Antigen-Antikörper-Komplexen in vitro zur Freisetzung insbesondere von Serotonin und lysosomalen Enzymen. In vivo beobachtete er die Freisetzung dieser Substanzen an der Basalmembran xenogen transplanterter Nieren. Die PMNL üben dabei einen permeabilitätssteigernden Einfluß auf die Membranen der Thrombozyten aus.

Die Freisetzung vasoaktiver Stoffe durch Thrombozyten und PMNL unter Agglutination ist in der Literatur bei immunologischen und allergischen Prozessen bekannt (2, 4, 26, 55, 85). Nach MOVAT u.a. (57, 85) hängt diese Reaktionsform von hitzebeständigen Plasmabestandteilen ab. Diese Anlagerung mit anschließender Freisetzung scheint jedoch unspezifisch zu sein: Thrombozyten zeigen dieses Verhalten bei Kontakt mit Latexpartikeln, Kollagen, Thrombin und Antigen-Antikörperkomplexen (5, 16, 85, 87, 89, 111). MUSTARD beob-

achtete bei Antigen-Antikörper-Komplexen einen Anstieg besonders der permeabilitätssteigernden Substanzen (87).

Einige Befunde sprechen dafür, daß auch diesen Reaktionen der nicht nur im Thrombozytenmetabolismus wichtige Stoffwechsel von ATP/ADP und cyklischem 3,5-AMP zu Grunde liegt (5, 77, 85, 94). Bei der Besprechung der Hemmung der HXAR durch zellulär wirksame Substanzen soll darauf noch eingegangen werden.

Für die Anlagerung von Partikeln an die Thrombozytenmembran (Immunadhärenz) scheint eine Aktivierung des C_3 -Systems verantwortlich zu sein. Es ist hitzestabil, und seine physiologische Bedeutung liegt offenbar in der Erleichterung der Phagozytose. Die Chemotaxis der PMNL läßt sich über das C_3 -System jedoch nicht erklären. Hier werden Stoffe wirksam, die im Plasma normalerweise an Inhibitoren gebunden sind. Auf noch ungeklärte Weise scheinen die Immunkomplexe eine Hemmung der Inhibitoren zu bewirken und so die Chemotaxis der PMNL zu den Immunkomplexen einzuleiten. Bei der Serumfraktionierung können die chemotaktisch wirksamen Stoffe u.U. von ihren Inhibitoren getrennt werden (52).

Die Zerstörung des Nierengewebes findet auf mehreren Wegen statt. Die dort lokalisierte Antigen-Antikörper-Reaktion zerstört unter Complementverbrauch die Endothelzellen (100).

Complementverbrauch und Thrombozytenverbrauch setzen praktisch gleichzeitig ein (30, 31, 100). Nach zwanzig Minuten sind die Endothelzellen bereits völlig zerstört (4, 96). Kollagen und Thrombin werden frei. Wie erwähnt, können beide Substanzen den Freisetzungsvorgang vasoaktiver Substanzen aus Thrombozyten in Gang bringen. Einige Autoren halten dabei das Thrombin für den eigentlichen Initiator (11, 123). Die durch Thrombin verursachte Thrombozytenaggregation läuft auch unter normalen physiologischen Bedingungen ständig ab, wird aber von der zur Erhaltung des hämostatischen Gleichgewichts sofort einsetzenden Fibrinolyse überdeckt (5). Die HXAR entwickelt sich dagegen so schnell, daß die Fibrinolyse nicht mehr stattfinden kann (26).

Bei der Abstoßungsreaktion im molekularen Bereich treten also mehrere Auslöser für die Thrombozytenagglutination auf: Als erstes die

Antigen-Antikörper-Komplexe, dann die Demaskierung von Kollagen und schließlich der Eintritt von Thrombin in das Gefäßinnere.

Die durch die Wirkung vasoaktiver Substanzen hervorgerufene Ischämie fördert den Zerstörungsprozeß weiter. Die Ischämie und ihre Wirkung auf die Thrombozyten verstärken sich gegenseitig (51, 106, 111). Eine Begründung gibt YAMAZAKI (140): Er konnte bei pH-Werten unter 5, wie sie in ischämischen Geweben kurzzeitig gefunden werden, eine Thrombozyten verklumpende Substanz nachweisen. Außerdem wirkt die Azidose stimulierend auf lysosomale Enzyme in Plasma- und Nierengewebe (41).

Nach dieser zusammenhängenden Darstellung der HXAR, wie sie in der Literatur gegeben wird, will ich versuchen, die unter D 2 - D 5 aufgeführten Diskussionspunkte in dieses Gesamtbild einzuordnen.

Zu D 2 (aHSE): Vorhanden sind Antikörper und Complemente. Die Antigen-Antikörper-Reaktion kann stattfinden, und unter Mitwirkung von Complement kommt es, wenn auch verlangsamt (69) zur Zerstörung des Endothels (101). Die Einschränkung der Nierendurchblutung läßt sich über die Entstehung von Anaphylatoxin und seiner vasoaktiven Komponente erklären. Da aber PMNL und Thrombozyten fehlen, und mit ihnen auch der circulus vitiosus aus Ischämie und Thrombozyten, ist der Untergang des Nierengewebes stark verzögert, der niedrigste Wert für Vp wird erst nach 120 Minuten erreicht.

Zu D 3 (GEZ): Antikörper und Complement fehlen, Leukozyten und Thrombozyten sind vorhanden. Da ihnen mit den fehlenden Antikörpern auch der Auslöser zur Agglutination fehlt, kann der zelluläre Mechanismus nicht in Gang kommen, und so bleibt die Nierendurchblutung in dem von uns beobachteten Zeitraum im Kontrollbereich. Diese Befunde deuten darauf hin, daß bei der HXAR eine "präformierte, zelluläre" Immunität nicht besteht: "präsensibilisierte" Lymphozyten scheinen demnach keine Rolle zu spielen.

Zu D 4 / D 5 (iHSE, iHSZ): Hier zeigt sich die Wichtigkeit des Complementsystems. Die Antigen-Antikörper-Reaktion und die Anlagerungsreaktion der Thrombozyten findet, wenn auch abgeschwächt (30), statt. Doch für die Freisetzung vasoaktiver Substanzen wie für die Zerstörung des Endothels ist vor allem Complement nötig. So fehlen mit

Kollagen und Thrombin zwei weitere Reize für die Thrombozytenaggregation. Weil die Entstehung von Anaphylatoxin ebenfalls complementabhängig ist, wird das Verhalten von Vp einer hyperakuten Abstoßung völlig unähnlich.

Außer dem Complement übt aber noch eine hitzebeständige Substanz fördernden Einfluß auf Agglutination und Granulaentleerung von Leukozyten und Thrombozyten aus (54). Wenn die Bedeutung dieser Substanz bei der Vollabstoßung auch zurücktreten dürfte, so könnte mit ihr doch das signifikante Unterschreiten von iRSZ durch iHSZ in der 115. und 120. Minute und der steile Abfall von Vp bei iHSZ (70% des Maximalwertes) erklärt werden. iHSE enthält nur wenig Thrombozyten und Leukozyten und bleibt so im Kontrollbereich.

Die Steigerung der Perfusionsvolumina von iHSE und iHSZ über die Kontrollwerte von der 25. bis zur 45. Minute ist aus der Literatur nicht zu erklären. Würde man zu Spekulationen neigen, so könnte man eine Blockierung des in den Maculadensa-Zellen lokalisierten, die Nierendurchblutung regulierenden Prinzips durch die Anlagerung von Antikörpern postulieren.

Dieser Vorgang wird bei der HXAR durch das akute Geschehen überdeckt, bzw. kommt gar nicht erst zur Ausbildung. So würde die Nierendurchblutung gesteigert, bis sie durch die perfusionsbedingte Vasokonstriktion und bei iHSZ noch zusätzlich durch das oben geschilderte Prinzip auf "unphysiologische" Weise eingeschränkt würde.

D 6

BENACERRAF (14) erwähnt bei der Besprechung der lokalisierten anaphylaktischen Reaktion, daß sie durch die lokale Injektion vasoaktiver Amine völlig imitiert werden kann. Die Beziehung der HXAR zur LAR sollen hier nicht diskutiert werden.

Da aber bei beiden Reaktionstypen Thrombozyten gefunden werden, griffen wir diese Anregung BENACERRAFS auf und injizierten während einer Perfusion mit neutralem Perfusat den Überstand zerstörter Thrombozyten in das Perfusionssystem. Aus der Reaktion der Nierengefäße läßt sich folgender Schluß ziehen: Thrombozyten enthalten Substanzen, die auch ohne Aktivierung durch Antigen-Antikör-

per-Reaktionen oder das Complementsystem eine starke vasokonstriktorische Wirkung ausüben.

Bei der Identifizierung dieser Substanzen ergeben sich Schwierigkeiten. NACHMAN und MOVAT (85, 89) konnten die Arthusreaktion durch die Senkung der Zellzahl verzögern. Gegen Histamin und Serotonin antagonistische Pharmaka bleiben wirkungslos. Das deutet darauf hin, daß andere in den Zellen enthaltene Stoffe wirksam werden. Auch MESSMER (81) wies nach, daß die von ihm beobachtete pressorische Aktivität des vom Transplantat ausgeschiedenen Urins im Schwein-Hund-System nicht auf Histamin oder Serotonin zurückzuführen ist. HUMPHREY (54) untersuchte den Gehalt an Histamin und Serotonin in Thrombozyten und Leukozyten verschiedener Spezies. Es stellte sich heraus, daß zwischen verschiedenen Spezies starke Differenzen bestehen. Der Histamingehalt beträgt zwischen 0,06 und 16,0 Mikrogramm, der Serotoningehalt zwischen 0,4 und 7,5 Mikrogramm pro Zelle. Leukozyten vom Hund enthalten praktisch kein Histamin, Thrombozyten dagegen Serotonin von durchschnittlich 1,7 Mikrogramm pro Zelle. Bei dieser quantitativen Untersuchung zeigt es sich jedoch, daß 5 - 10% der pharmakologischen Wirkung von Thrombozyten nicht durch die obengenannten Substanzen erklärt werden können. Für das unterschiedliche Verhalten der Transplantatüberlebenszeit bei verschiedenen Spender-Empfänger-Konstellationen ergibt sich aus den Untersuchungen HUMPREY's eine interessante Forderung: Es wäre zu untersuchen, ob die Abstoßungszeit außer zur genetischen Entfernung auch Beziehungen zum unterschiedlichen Histamin- und Serotoningehalt in den Leukozyten und Thrombozyten der verschiedenen Spezies aufweist.

D 7

Der hier beschriebene Befund (GEzL) ist in der Literatur nicht beschrieben. Die eine Hämaturie erzeugende Wirkung des Inhalts zerstörter Leukozyten mag auf proteolytischen Enzymen beruhen. Unklar bleibt, warum die Hämaturie erst dann auftritt und sich steigert, wenn die Verursachungssubstanz längst ausgewaschen sein müßte. Leider brachten auch eigene elektronenmikroskopische Untersuchungen keine weitere Klärung (96). Es bleibt offen, ob die bei der HXAR sehr früh

auftretende Hämaturie durch Leukozyten hervorgerufen wird, die bei der Destruktion des Organs in großer Zahl verbraucht werden, oder die Folge einer allgemeinen Organdestruktion ist.

D 8

Der Befund, daß die HXAR auch ohne intaktes Gerinnungssystem ablaufen kann, trägt zur Klärung des grundlegenden Abstoßungsmechanismus wichtiges bei. Denn einige Autoren, sehen in der intravasalen Gerinnung (IVC) den eigentlichen Auslöser für die hyperakute Abstoßung. Nach STARZL (128) u.a. (24, 60) stellt der Kontakt von Antigen und Antikörper die Triggerreaktion für die intravasale Gerinnung dar. BRAUN (19) ordnet die HXAR der Swartzman-Reaktion zu und BUSCH (24) bezeichnet die hyperakute Abstoßung als Extremform der intravasalen Gerinnung. Er ist der Auffassung, daß das vasomotorische Geschehen durch die IVC eingeleitet wird. Diese Meinung kann sich auf NIEWIAROWSKI (92) stützen, der berichtet, daß Thrombozyten bei Kontakt mit Fibrinpolymeren vasoaktive Substanzen freisetzen. Fibrinablagerungen im xenogen perfundierten Organ wurden von mehreren Autoren gefunden (24, 27, 75). Es liegt jedoch die Vermutung nahe, daß diese Freisetzungsstimulation durch Fibrin ein unspezifischer Vorgang ist, wie er unter D 4 / D 5 bereits besprochen wurde.

In diesem Zusammenhang dürfte die Tatsache nicht unwichtig sein, daß STARZL u.a. (33, 128, 129) ihre Beobachtungen an klinischen Fällen gemacht haben; die Histologie wurde erst entnommen, als der eigentliche Abstoßungsvorgang abgelaufen war, und allgemeine biologische Reaktionen, wie eben auch die Fibrinausfällung, den physiologischen Abbau des abgestoßenen Organs einleiteten. MYBURGH (88) weist darauf hin, daß durch eine später entnommene Histologie eine Unterscheidung zwischen immunologischen oder durch Gerinnungsvorgänge eingeleiteten Prozessen nicht mehr zu klären sei.

Ein wichtiger Beitrag zur Bestimmung der hier gegebenen Prioritäten kam von GILES (43), der im Nierenvenenblut den Abfall der Gerinnungsfaktoren im Nierenvenenblut erst nach einem Abfall der Thrombozytenzahl beobachten konnte. Dementsprechend fand MYBURGH histologisch erst nach 4 Stunden Fibrinablagerungen, PMNL aber bereits

in den ersten Minuten. ASHFORD (5) gibt einen Hinweis, wie Thrombozyten und IVC bei der HXAR verknüpft sein könnten. Er faßt das Endothel als passive Barriere auf, die die Gerinnungsenzyme des Gewebes vom Gerinnungssystem des Blutes trennt. Im Zuge der schon besprochenen immunologischen Reaktion, bei der die Endothelschädigung einerseits durch die Antigen-Antikörperreaktion selbst, andererseits durch die der Thrombozytenreaktion auf Antigen-Antikörper-Komplexe folgende Ischämie hervorgerufen wird, kommen beide Gerinnungsfaktoren in Berührung. Die Freisetzung vasoaktiver Stoffe aus den Thrombozyten ist also nicht die Folge einer primären Aktivierung des Gerinnungssystems, sondern deren Ursache (16). Auch wirken Antigen-Antikörper-Komplexe nur in Gegenwart von Thrombozyten als Auslöser für die IVC nicht im Thrombozytenfreien Plasma (108).

Nach diesen Ausführungen, in Verbindung mit dem Befund der vollständig ablaufenden HXAR bei durch Heparin gehemmter Gerinnung, kann die Bedeutung des Gerinnungssystems als auslösender Faktor der HXAR in Übereinstimmung mit mehreren Autoren (2, 7, 73, 83, 86, 111, 112, 124) abgelehnt werden.

Als Anhang an das Gerinnungsproblem soll der Wirkungsmechanismus einiger Stoffe diskutiert werden, die eine verlängernde Wirkung auf die Transplantatüberlebenszeit ausüben.

Die Transplantatüberlebenszeit verlängern u.a.: Heparin, Aspirin (73, 111), Novocain (81, 112), und die isovolämische Dilution mit Makrodex o.ä. (26, 81, 124).

Heparin: Die protektive Wirkung des Heparin auf die Transplantatüberlebenszeit wurde zunächst seiner gerinnungshemmenden Komponente zugeschrieben. Wie oben gezeigt, hat das Gerinnungssystem bei der HXAR jedoch nur untergeordnete Bedeutung. Außerdem stellte sich heraus, daß eine Thrombozytenagglutination im Kontakt mit Kollagen auch dann zustande kam, wenn hohe Heparinkonzentrationen eine Fibrinformaion verhinderten (5). Heute wird die transplantatfördernde Wirkung des Heparin auf seine complementhemmende Komponente zurückgeführt. Für die Verwendung des Heparin im vorliegenden Modell wirkt sich günstig aus, daß die Gerinnungshemmung mit

Dosen erreicht wird, die auf das Complementsystem noch keinen Einfluß ausüben.

Aspirin: Es verhindert die Freisetzung von ADP an der Thrombozytenmembran (95) und blockiert so den gemeinsamen Weg jeder Thrombozytenaggregation, unabhängig vom einleitenden Mechanismus.

Novocain: Die Kontraktion der Gefäßmuskulatur wird gehemmt. So bleibt die Einschränkung der Nierendurchblutung aus, während die anderen destruirenden Vorgänge ablaufen können.

Isovolämische Dilution: Dabei wird die Konzentration aller Faktoren vermindert, die an der Abstoßung beteiligt sind. Auf die Verlängerung der Überlebenszeit bezogen, wird z.B. die Zellzahl/Zeit vermindert, die mit dem Endothel des Spenderorgans in Berührung kommt. Die Menge an vasoaktiver Substanz ist vermindert, Auswaschvorgänge verhindern das Überwiegen der Abstoßungsvorgänge. Nach ROSENBERG (111, 112) ist die Agglutination der Thrombozyten möglicherweise reversibel, wenn die sie fördernden Reize abnehmen. Die Dilutionsversuche zeigen, daß ein wesentlicher Faktor der HXAR im "ÜBERROLLEN" natürlicher Gegenmechanismen wie der Fibrinolyse oder des Auswaschens vasoaktiver Stoffe liegt.

CLAES (26) diskutiert die Wirkung isovolämischer Dilution im Fall des Dextran dahingehend, daß die Verlängerung der Abstoßungszeit unter Umständen auch durch die desaggregierende Wirkung des Dextran verursacht wird.

Es zeigt sich, daß bis auf Heparin alle die Abstoßungszeit der HXAR verlängernden Substanzen am zellulären Mechanismus ansetzen. Dextran wirkt u.U. der Agglutination entgegen, wie auch Aspirin, das zusätzlich die Freisetzung gefäßwirksamer Stoffe aus den Thrombozyten hemmt. Deren Wirkung am Erfolgsorgan blockiert das Novocain. Die Senkung der Zellzahl durch isovolämische Dilution wirkt quantitativ auf alle drei Ansatzpunkte.

4.5 Zusammenfassende Überlegungen zur hyperakuten Abstoßungsreaktion

Nach der Arbeit von PERPER (100) sind für die hyperakute Abstoßung in erster Linie humorale Abwehrmechanismen zuständig, für die parakute auf der anderen Seite zelluläre Mechanismen. Der Ausdruck "Mechanismus" wird hier, wie häufig in der Literatur für den initialen Vorgang gesetzt, der das komplexe Abstoßungsgeschehen einleitet: Ob bereits Antikörper vorhanden sind, die mit den Antigenen des Transplantates reagieren, oder ob die Antigenerkennung noch vollzogen werden muß.

Im Titel der vorliegenden Arbeit ist der Ausdruck "Mechanismus" in einem anderen Sinn gebraucht: Es geht hier nicht um den Erkennungsvorgang, sondern um das Ineinandergreifen und den zeitlichen Ablauf der Einzelschritte, die schließlich zur Destruktion des Transplantates führen. Einiges spricht dafür, daß dieser Mechanismus unabhängig von der genetischen Situation zwischen Spender und Empfänger abläuft. Nach MACDONALD und JENSEN (59, 74) sind die Organveränderungen bei der hyperakuten xenogenen und bei der hyperakuten allo-genen Abstoßungsreaktion identisch. WILLIAMS (138) folgt dieser Auffassung. MARCEAU (75) verallgemeinert weiter und weist auf die Ähnlichkeit des Abstoßungsvorgangs im engeren Sinn mit der Arthusreaktion hin. Entscheidend für den hyperakuten Ablauf ist somit allein die Frage, ob zum Zeitpunkt der Transplantation bereits Antikörper vorhanden sind (31, 100, 123, 138). Diese Antikörper müssen cytotoxisch wirken und Complement binden (119).

A. SCHILLING (116) wies in seiner Dissertation die Bedeutung eines nicht immunologischen Prinzips für die HXAR nach. Eine in der γ_2 -Fraktion der Kartonelektrophorese mitlaufende Substanz wirkt auf die isoliert perfundierte Rattenniere im Sinn einer Abstoßungsbeschleunigung. Diese Beobachtung bestätigt eine Vermutung CALNE's, daß neben immunologischen Grundreaktionen physicochemische Unverträglichkeiten und Verschiedenheiten im Metabolismus die Abstoßung transplantierter Organe beschleunigen könnten (25).

Einen Hauptfaktor der HXAR stellt das vasoaktive Prinzip dar (17, 62, 110). Die einfache Vorstellung von der Obstruktion der Gefäßbahn wird

durch einen differenzierten Mechanismus erweitert, in dem Antigen, Antikörper, Complement, Leukozyten und Thrombozyten mit sich gegenseitig beeinflussenden und bedingenden Schritten eingebaut sind.

Die Bedeutung des vasoaktiven Prinzips für den hyperakuten Charakter einer Abstoßungsreaktion soll noch ein Beispiel zeigen. HOPF und HICKMAN (49, 52) berichten über die xenogene Leberperfusion:

Thrombozyten und Complement werden verbraucht, die Leberzellen werden offenbar geschädigt, was aus dem Anstieg der Leberenzyme ersichtlich ist, doch die Leberdurchblutung wird nicht wesentlich eingeschränkt. Denn an der mit Sphinktern schlecht ausgestatteten Leber können die entstehenden vasoaktiven Substanzen ihre Wirkungen nicht entfalten. Die Perfusionsdauer ist gegenüber im gleichen System perfundierten Nieren wesentlich verlängert.

Zusammengefaßt besteht die HXAR aus einem Ineinandergreifen von humoralen Antikörpern, Complement, polymorphkernigen Leukozyten und Thrombozyten. Diese Reaktionsform hat allgemeinen Charakter und liegt auch anderen immunologischen Reaktionen wie z.B. der Arthusreaktion zu Grunde. Auch bei Autoimmunerkrankungen wurden die obengenannten Faktoren gefunden, ohne daß hier jedoch der genaue Mechanismus bereits bekannt wäre. Im speziellen Fall der xenogenen perfundierten Niere greifen Besonderheiten der Organstruktur wie der Aufbau der Nierenstrombahn und die reichliche Ausstattung mit Sphinktern in den Abstoßungsmechanismus ein und beschleunigen seinen Ablauf.

5 Zusammenfassung

1. In einem In-vitro-Modell der isolierten Perfusion von Rattennieren wurde die Wirkung xenogener Perfusate, die hinsichtlich des Antikörper-, Komplement-, oder Zellgehaltes modifiziert waren untersucht. Als Perfusatspender diente die Spezies Hund.
2. Die durch das isolierte System bedingten Veränderungen der physiologischen Normwerte wurden in Kontrollversuchen mit Rattenvollblut geklärt. So waren die perfusionsbedingten Schäden abschätzbar, und das Verhalten der Meßgrößen konnte zur Beurteilung der abstoßungsbedingten Beeinträchtigung der Organfunktion herangezogen werden.
3. Es ergab sich, daß die hyperacute xenogene Abstoßungsreaktion (HXAR) in ihrem rapiden und zur Organzerstörung führenden Verlauf an die Anwesenheit von präformierten Antikörpern, Thrombozyten, Leukozyten und Komplement gebunden ist.
Bei Inaktivierung des Komplementsystems oder bei Entfernung der Antikörper kann die HXAR im beobachteten Zeitraum nicht mehr ablaufen. Das Fehlen der zellulären und korpuskulären Blutelemente führt dagegen nur zur Verlangsamung der Abstoßungsreaktion.
4. Im Zytoplasma der Thrombozyten und Leukozyten enthaltene Substanzen können Teilreaktionen der HXAR wie den rapiden Abfall der Durchblutung und das Auftreten einer Hämaturie auch in Abwesenheit von immunologischen Prozessen auslösen.
5. Die Frage, ob nicht immunologische Faktoren die HXAR auslösen können, ist nach den Ergebnissen der hier verwendeten Versuchsanordnung nicht zu beantworten.
6. Aus den Versuchsbefunden ergibt sich bei Berücksichtigung der in der Literatur vertretenen Auffassungen folgendes Bild der HXAR:

Die hyperacute xenogene Abstoßungsreaktion läuft nach einem grundlegenden Schema ab, in dem ein hochspezifischer immunologischer Erkennungsvorgang mit einer allgemeinen Reaktionsform verknüpft

ist. Die Auslösung erfolgt wahrscheinlich durch den Antigen-Antikörper-Kontakt. Danach greifen nichtimmunologische Faktoren ein, z.B. pharmakodynamische Produkte zellulärer Blutelemente, die über eine Vasoconstriction zur Destruktion des Spenderorgans führen.

Eine therapeutische Einflußnahme auf die HXAR ist folglich nur am speziellen Teil, dem immunologischen Erkennungsvorgang möglich.

Literaturverzeichnis

- 1 Abbell R.G., Schenk H.P.
Microscopic observations on the behavior of living blood vessels
of the rabbit, during the reaction of anaphylaxis
J. immunol. 34, 195, (1938)
- 2 Ado A.D., Ishimova L.M., Polner A.A.
Changes in smooth muscle organs due to allergy
II. Intern. Sympos. on Immunopathology, Brook Lodge, p 109,
(1961)
- 3 Aldenhoff J., Schilling A.
Eigene Untersuchungen (nicht publiziert) München 1970-73
- 4 Andres G.A.
Immunopathological mechanisms for the production of glomerular
lesions: experimental considerations in transplantation
Nature 221, 325 (1969)
- 5 Ashford T.P., Freiman D.G.
The role of endothelium in the initial phases of thrombosis
Amer. j. pathol. 50, 257 (1967)
- 6 Ashford T.P., Freiman D.G.
Platelet aggregation at sites of minimal endothelial injury
Amer. j. pathol. 53, 599 (1968)
- 7 Baethmann A.
persönliche Mitteilung
- 8 Ballantyne D.L., Coburn R.J., Hawthorne G.A., Nathan P.
Platelet levels during rat skin allograft rejection
Transplantation 13, 531 (1972)
- 9 Basar E., Tischner H., Weiss Ch.
Untersuchungen zur Dynamik druckinduzierter Änderungen des
Strömungswiderstandes der autoregulierenden, isolierten Ratten-
niere
Pflügers Archiv 299, 191 (1968)

- 10 Baumgarten H.G., Leichtweiss H.-P., Weiss Ch.
Untersuchungen über die Bedeutung sympathischer Überträger-
stoffe bei der Autoregulation des Perfusionsvolumenstromes der
Rattenniere
Pflügers Archiv 299, 214 (1968)
- 11 Baumgartner H.R., Stemerman M.B., Spaet Th. H.
Adhesion of blood platelets to subendothelial surface:
distinct from adhesion to collagen
Experientia 27, 283 (1971)
- 12 Belzer F.O., Park H.Y., Vetto R.M.
Factors influencing renal blood flow during isolated Perfu-
sion
Surg. For. 15, 222 (1964)
- 13 Belzer F.O., Ashby B.S., May E.R., Dunphy J.E.
Isolated perfusion of whole organs
In: Organ Perfusion and Preseveration, ed. by J.C. Norman
N.Y. 1968
- 14 Benacerraf B., McCluskey R.T.
Methods of immunologic injury to tissues
Ann. rev. microbiol. 17, 263 (1963)
- 15 Berkowitz H.D., Miller L.D., Itskovitz H.D.
Renal function and the renin-angiotensin system in the iso-
lated perfused kidney
Amer. J. Physiol. 213, 928, 1967
- 16 Bettex-Galland M., Lüscher E.F., Simon G., Vassalli P.

Nature 200, 1109 (1963)
- 17 Bohle A., Edel H., Pichlmaier H.
Über die Beziehungen von Struktur und Funktion bei der
acuten, peracuten und chronischen Abstoßung von Nierentrans-
plantaten

Organtransplantation - Immunologie und Klinik

hrsg. A. Heymer

Schattauer Verlag, Stuttgart-New York 1969 p. 89

- 18 Bollman J.L., Maker F.T., Manger W.M.
Plasma concentration of epinephrine and norepinephrine in
hemorrhagic and anaphylactic shock
J. physiol. 133, 49 P, (1956)
- 19 Braun W.E., Merrill J.P.
Urine fibrinogen fragments in human renal allografts
New Engl. J.med. 278, 1366 (1968)
- 20 Brendel W.
Transplantation und Immunologie
Arch.klin.exp. Ohr.-Nas.-u. Kehl.k.Heilk. 196, 39 (1970)
- 21 Brendel W.
Modern trends in experimental organ transplantation
Europ. surg. res. 1971
- 22 Bücherl E.S.
Künstliche Organe - Entwicklungstendenz und Probleme
Langenbecks Arch. 72, 332 (197)
- 23 Bull B.S.
Changes in platelet volume produced by temperature, metabolic
inhibitors and aggregating agents
Proc. soc.exp.biol.med. 120, 296 (1965)
- 24 Busch G.J., Braun W.E., Carpenter C.B., Corson J.M.
Galvanek E.R., Reynolds E.S., Merril J.P., Dammin G.J.
Intravascular coagulation (IVC) in human renal allograft rejection
Transpl. proc. 1, 267 (1969)
- 25 Calne R.Y.
Organ transplantation between widely disparate species
Transpl. proc. 2, 550 (1970)

- 26 Claes G.
The effect of platelet deaggregating substances on renal allograft rejection in sensitized dogs
Acta chir. scand. 139, 127 (1973)

- 27 Claes G., Ljungqvist U.
Platelet alterations during accelerated rejection of canine renal allografts
Act. Chir. scand. 139, 123 (1973)

- 28 Claes G., Svalander C., Bergentz S.-E.
The accumulation and distribution of platelets and fibrin in rejecting dog kidney
Acta. Chir. scand. 139, 91 (1973)

- 29 Clard D.S., Gewurz H.D., Good R.A., Varco R.L.
Complement fixation during homograft rejection
Surg.For. 15, 144 (1964)

- 30 Clark D.S., Foker J.E., Pickfring R., Good R.A., Varco,R.L.
Evidence for two platelets populations in xenograft rejection
Surg. For. 17, 264 (1966)

- 31 Clark D.S., Foker J.E., Gewurz H., Good R.A., Varco, R.L.
Effector mechanisms in renal graft rejection
Surgery 62, 771 (1967)

- 32 Cohen B.E., Folkmann M.J.
Cell death and the measurement of oxygen in the isolated perfused organ
In: *Organ perfusion and presevation*, ed.by J.C. Norman
N.Y. 1968

- 33 Colman R.W., Braun W.E., Busch G.J., Dammin G.J., Merrill J.P.
Coagulation studies in the hyperacute and other forms of renal allograft rejection
New Engl. j. med. 281, 685 (1969)

- 34 Couch N.P., Cassie G.F., Murray J.E.
Survival of the excised dog kidney perfused in a pump-oxygenator system
Surgery 44, 666 (1958)
- 35 Dogherty J.C., Panossian A., Neelsen S.L., Torres M., Veith F.J.
Distribution of blood flow in isolated kidneys perfused with blood, plasma and cristalloids
In: *Organ perfusion and presevation*, ed. by J.C.Norman
N.Y. 1968
- 36 Earley L.E., Friedler R.M.
Changes in renal blood flow and possibly the intrarenal distribution of blood during the natriuresis accompanying saline loading in the dog
J.Clin.Invest. 44, 929 (1965)
- 37 Edel H.H.
Nierentransplantation
Internist 12. Jhg. Heft 3 (1971)
- 38 Eggleton M.G., Pappenheimer J.R., Winton F.R.
The mechanisms of dilution diuresis in the isolated kidney and the anaesthetized dog
J. Physiol. 98, 336 (1940)
- 39 Fraley E.E., Malt R.A.
Intracellular defect produced by renal ischemia
Surgery 62, 221 (1967)
- 40 Frick M.H., Virkkula L., Paasonen M.K.
5-H T and antidiuresis after operation
Surgery 50, 447 (1961)
- 41 Gardner L.B., Guttman R.D., Merrill J.P.
Renal transplantation in the inbred rat
Transpl. 6, 411 (1968)

- 42 Giles G.R., Boehmig H.J., Lilly J., Amemiya H., Takagi H.
Coburg A.J., Hathaway W.E., Wilson C.B., Dixon F.J.,
Starzl T.E.
Mechanism and modification of rejection of heterografts between divergent species
Transpl.proc. 2, 522 (1970)
- 43 Ginsburg M., Brown L.B.
Effect of anesthetics and hemorrhage on the release of neurohypophyseal antidiuretic hormone
Brit. j. pharmacology 11, 236 (1956)
- 44 Grove E.F.

J.immunol. 23, 147 (1932)
- 45 Hansson L.O.
Platelet aggregation induced by hypothermia or tissue extracts as a cause of renal vascular obstruction
- 46 Heidenreich H.
Sekretion und Wirkungen der Hormone des Hypophysenhinterlappens
Dtsch.med.Wschr. 86, 674 (1961)
- 47 Henson P.M.
Mechanisms of release of constituents from rabbit platelets by antigen-antibody complexes and complement
J.immunol. 105, 476 (1970)
- 48 Hey D., Ditter H. Bernd D., Neuhoef H.
Die Beeinflussung der kollagen-induzierten Plättchenaggregation durch verschiedene Plasmaersatzmittel
Med. Welt 24, 1167 (1973)
- 49 Hickman R., Parker J.R., Saunders S.J., Terblanche J.
Platelet adherence in the pig liver perfused with human blood
Transplantation 13, 195 (1972)

- 50 Hinshaw L.B., Page B.B., Brake C.M., Emerson T.E.
Mechanisms of intrarenal hemodynamic changes following
acute arterial occlusion
Am.j.physiol. 105, 1033 (1963)
- 51 Hollenberg N.K., Retik A.B., Rosen S.M., Murray J.E.,
Merrill J.P.
The role of vasoconstriction in the ischemia of renal allograft
rejection
Transpl. 6, 59 (1968)
- 52 Hopf U., Brendel W.
Transplantationsimmunologie
Arch.klin.exp.Ohr.-Nas.-u. Kehlk.Heilk. 196, 57 (1970)
- 53 Horowitz R.E., Burrows L., Paranetto F., Wildstein W.
Immunocytochemical observations in canine kidney homograft
Fed. Proc. 22, 274 (1962)
- 54 Humphrey J.H., Jaques R.
The histamine and serotonin content of platelets and PMN-
leucocytes of various species
J.physiol. 124, 305, (1954)
- 55 Humphrey J.
Cellular components involved in the immediate allergic reaction
Immunopathology Symp. 1958 Basel-Seelisberg, p 215
- 56 Humphrey J., Withe R.G.
Kurzes Lehrbuch der Immunologie
Stuttgart (1971)
- 57 Iijima K., Salerno R.A.
Factors influencing hemolysis in model perfusion systems
Ann. Surgery 161, 148 (1965)
- 58 Jeannet M., Pinn V.W., Flax M.H., Winn H.J., Russell P.S.
Humoral antibodies in renal allotransplantation in man
New Engl. j. med. 282, 111 (1970)

- 59 Jensen J.A., Davies D.B., Linn S., Snyderman R., Franklin L.
Complement-mediated vasoconstriction and graft rejection
Circ. res. 30, 332 (1972)
- 60 Kissmeyer-Nielsen F., Olsen St., Petersen V.P., Fjeldborg O.
Hyperacute rejection of kidney allografts, associated with pre-existing humoral antibodies against donor cells
Lancet 1966, 2 p. 662
- 61 Knox F.G., Howards S.S., Wight F.S., Davies B.B., Berliner R.W.
Effect of dilution and expansion of blood volume on proximal sodium reabsorption
Am.j.physiol. 215, 1041 (1968)
- 62 Kountz S.L., Laub D.R., Cohn R.
Detecting and treating early renal homotransplant rejection
J. amer.med.ass. 191, 125 (1965)
- 63 Kramer K., Prucksunand P., Brechtelsbauer H.
Influence of hematocrit changes on renal blood circulation and natriuresis
In: Hemodilution, Int. Symp. Rottach-Egern 1971 S. 203
- 64 Land W., Mendler N., v.Liebe S., Pielsticker K., Messmer, K.
Experimentelle Xenotransplantation in entfernt stammesverwandten Speciessystemen
Klin. Wschr. 49, 1964 (1971)
- 65 Land W.
Möglichkeiten und Grenzen der xenogenen Organtransplantation
Der Chirurg 42, 172 (1971)
- 66 Land W., Brendel W.
Zelluläre und humorale Immunantwort bei der Organtransplantation
I. Internationales Bonner Lebertransplantationssymposium

- 67 Leichtweiss H.-P., Schröder H., Weiss Ch.
Die Beziehung zwischen Perfusionsdruck und Perfusionsstromstärke an der mit Paraffinöl perfundierten isolierten Rattenniere
Pflügers Archiv 293, 303 (1967)
- 68 v. Liebe S.
Inaug. Diss.
in Vorbereitung
- 69 Linn B.S., Jensen J.A., Pardo V., Davies D., Franklin L.
Relationship between structural and functional changes in rejecting renal xenograft
Transpl. proc. 3, 527 (1971)
- 70 Lowenhaupt R., Nathan P.
Platelet accumulation observed by electron microscopy in the Early Phase of Renal Allotransplant. Rejection
Nature 220, 822 (1968)
- 71 Lowenhaupt R., Nathan P.
The participation of platelets in the rejection of dog kidney allotransplants: hematologic and electron microscopic studies
Transpl. proc. 1, 305 (1969)
- 72 Lowenhaupt R.W., Nathan P., Menefee, M.G.
Correlation of platelet aggregation in canine renal allotransplants with serum cytotoxic antibody following treatment with azathioprine
Trans. proc. 3, 453 (1971)
- 73 MacDonald A., Busch G.J., Alexander J.L., Pheteplace E.A., Menzoian J., Murray J.E.
Heparin and aspirin in the treatment of hyperacute rejection of renal allografts in presensitized dogs
Transpl. 9, 1 (1970)
- 74 MacDonald A.S., Bell W.R., Busch G.J., Ghose T., Chan C.C., Falvey C.F., Merrill J.P.
A comparison of hyperacute canine renal allograft and sheep - to

dog xenograft rejection

Transpl. 13, 146 (1972)

- 75 Marceau J.P., Hallenbeck G.A., Zollman P.E., Butler H.C., Shorter R.C.
A comparison of autoplasic, allogeneic and xenogeneic perfusion of isolated kidneys
J. Surg. Res. 5, 492 (1965)
- 76 DeMaria W.J.A., Krueger R.P., Hawkins D.M., Sanders, A.P., Baylin G.J.
Renal artery response to epinephrine
Proc. soc. exp. biol. med. 114, 588 (1963)
- 77 Marquis N.R., Becker J.A., Vighdahl R.L.
Platelet aggregation: III. An epinephrine induced decrease in cyclic AMP-Synthesis
Biochemical and biophysical research communications 39, 783 (1970)
- 78 Marx G.H.
Inaug. Diss.
München (1969)
- 79 Meßmer K., Schmidt-Mende M.
Die Kältevasoconstriction der Nierengefäße
Zeitschr.ges.exp.Med. 139, 468 (1965)
- 80 Messmer K., Rosenthal L.
Isolierte Perfusion der Hundeniere in situ vor und während Mannitdiurese
Zeitschr.ges.exp.Med. 141, 281 (1966)
- 81 Meßmer K., Hammer C., Land W., Fiedler L., Klövekorn W. P., Holper K., Lob G., Merzel D., Brendel W.
Modification of hyperacute xenogeneic kidney rejection
Transpl. proc. 3, 542 (1971)

- 82 Mills D.C., Roberts G.C.K.
Effects of adrenaline on human blood platelets
J.physiol. 193, 443 (1967)
- 83 Moberg A.W., Shons A.R., Gewurz H., Mozes M., Najarian J.S.
Prolongation of renal xenografts by the simultaneous sequestration of preformed antibody, inhibition of complement, coagulation and antibody synthesis
Transpl. proc. 3, 538 (1971)
- 84 Moffst D.B., Fourman J.
The vascular pattern of the rat kidney
J. Anat. 97, 543 (1963)
- 85 Movat H.Z., Mustard J.F., Taichmann N.S.
Platelet aggregation and release of ADP, serotonin and histamine associated of phagocytosis of AG-AB-complexes
Proc.soc.exp.biol.med. 120, 232 (1965)
- 86 Mozes M.F., Gewurz H., Gunnarson A., Moberg A.W., Westberg N.G., Jetzer T., Najarian J.S.
Xenograft rejection by dog and man: isolated kidney perfusion with blood and plasma
Transpl. proc. 3, 531 (1971)
- 87 Mustard J.F., Movat H.Z., Macmorine D.R., Senyi A.
Release of permeability factors from the blood platelet
Proc.soc.exp.biol.med. 119, 988 (1965)
- 88 Myburgh J.A., Cohen J., Gecelter L., Meyers A.M., Abrahams C., Furman K.I., Goldberg B., van Blerk P.J.P.
Hyperacute rejection in human kidney allografts-Shwartzman or Arthus reaction?
New Engl. j. med. 281, 131 (1969)
- 89 Nachman R.L., Weksler B., Ferris B.
Increased vascular permeability produced by human platelet granule cationic extract
J.Clin.Invest. 49, 274, (1970)

- 90 Nashat F.S., Scholefield F.R., Tappin J.W., Wilcox C.S.
The effect of acute changes in haematocrit in the anaesthetized dog on the volume and character of the urine
J. Physiol. 205, 305 (1969)
- 91 Nathan P., Foulkes E.C., Wilchins L.J., Miller B.F.
Metabolism of the transplanted dog kidney
Proc.soc.exp.biol.med. 111, 207 (1962)
- 92 Niewiarowski St., Regoeczi E., Stewart G.J., Senyi A.F.
Mustard J.F.
Platelet interaction with polymerizing fibrin
J. clin. invest. 51, 685 (1972)
- 93 Nizet A., Cuypers Y., Deetjen P., Kramer K.
Functional capacity of the isolated perfused dog kidney
Pflügers Archiv 296, 179 (1967)
- 94 O'Brien, J.R.
A comparison of platelet aggregation produced by seven compounds and a comparison of their inhibitors
J. clin. path. 17, 275 (1964)
- 95 O'Brien J.R.
Aspirin and platelet aggregation
Lancet 1968, 1, p.204
- 96 Paquet K.J.
Hemodynamic studies on normothermic perfusion of the isolated pig kidney with pulsatile and non pulsatile flows
Edizioni Minerva Medica
- 97 Pardo V.
zit. in Linn B.S. et al.
Transpl. proc. 3, 527 (1971)

- 98 Perry V.P., Lindbergh C.A., Malinin T.I., Mouer G.H.
Pulsatile perfusion of whole mammalian organs
In: Organ Perfusion and Presevation, ed. by J.C. Norman
New York 1968
- 99 Perper R.J., Najarian J.S.
Experimental renal heterotransplantation
I. In widely divergent species
Transpl. 4, 377 (1966)
- 100 Perper R.J.
Renal heterotransplant rejection
Transpl. 12, 519 (1971)
- 101 Pielsticker K., Schilling A., Aldenhoff J., Land W.
Untersuchungen zur perakuten Abstoßung xenotransplantierter
Nieren
Verhandlungen d. deutschen Ges.f. Pathologie 55, 645 (1971)
- 102 Pielsticker K., Aldenhoff J.
Eigene Untersuchungen zur HXAR
nicht publiziert, München 1970/72
- 103 Reemtsma K., McCracken B.H., Schlegel J.U., Pearl M.A.,
Pearce C.W., DeWitt C.W., Smith P.E., Hewitt R.L., Flinner
R.L., Creech O.
Renal heterotransplantation in man
Ann.surg. 160, 384 (1964)
- 104 Reemtsma K.
Verbalisation "heterograft versus xenograft"
New Engl.J.Med. 272, 380 (1965)
- 105 Reemtsma K.
Heterotransplantation
Transpl. proc. 1, 251 (1969)

- 106 Retik A.B., Hollenberg N.K., Rosen S.M., Merrill J.P.,
Murray J.E.
Cortical ischemia in renal allograft rejection
Surg. Gyn. Obst. 124, 989 (1967)
- 107 Robbins J., Stetson C.A.
An effect of antigen-antibody interaction on blood coagulation
J. exp.med. 109, 1 (1959)
- 108 Robertshaw G.E., Madge G.E., Williams G.M., Hume D.M.
Hyperacute rejection of dog renal autografts
Surg. For. 20, 291 (1969)
- 109 Richards A.N., Plant O.H.
Urine formation in the perfused kidney: the influence of
adrenaline on the perfused kidney
Am.j.physiol. 59, 184 (1922)
- 110 Rosen M.S., Retik A.B., Hollenberg N.K., Merrill J.P.,
Murray J.E.
Effect of immunosuppressive therapy on the intrarenal distri-
bution of blood flow in dog renal allograft rejection
Surg. For. 17, 233 (1966)
- 111 Rosenberg J.C., Broersma R.J., Bullemer G., Mammen E.
F., Lenaghan R., Rosenberg B.F.
Relationship of platelets blood coagulation, and fibrinolysis
to hyperacute rejection of renal xenografts
Transplantation 8, 152 (1969)
- 112 Rosenberg J.C., Hawkins E., Rector F.
Mechanisms of immunological injury during antibody-mediated
hyperacute rejection of renal heterografts
Transpl. 11, 151 (1971)
- 113 Rosenfeld S., Sellers A.L.
Pressure-flow studies in the isolated artificial heart-lung
perfused mammalian kidney
Am.journ.physiol. 199, 499 (1960)

- 114 Sarajas H.S.S., Kristoffersson R., Frick M.H.
Release of adenosine triphosphate and serotonin from injured cellular blood elements in extracorporeal circuits
Nature 184, 1127 (1959)
- 115 Schilling A., Lamerz R., Land W., Brendel W.
Weitere Untersuchungen am Modell der renalen In-vitro Xenohämoperfusion
Res. exp. med. 157, 255 (1972)
- 116 Schilling A.
Inaug. Diss.
München 1972
- 117 Scriba P.C., Schwarz K.
Hypothalamus und Hypophyse
In: *Klinische Pathophysiologie*, Hrsg. W. Siegenthaler
Stuttgart 1970 S. 252 ff.
- 118 Selkurt E.E.
Effect of pulse pressure and mean arterial pressure modification on renal hemodynamics and electrolyte and water excretion
Circulation 4, 541 (1951)
- 119 Sellin D., Kövary M., Rother U., Rother K.
Intrarenal complement fixation by cytotoxic antibodies
- 120 Share L.
Vasopressin, its bioassay and the physiological control of its release
Am.j.med. 42, 701 (1967)
- 121 Sollinger H.W.
pers. Mitteilung

- 122 Shons A.R., Mozes M.F., Santiago E.E., Ethredge E.E.,
Buselmeier T.J., Najarian J.S.
Sheep to man renal Xenograft
Europ.surg.res.4, (1972)
- 123 Simpson K.M., Bunch D.L., Amemiya H., Boehmig H.J.,
Wilson C.B., Dixon F.J., Coburg A.J., Hathaway W.E.,
Giles G.R., Starzl T.E.
Humoral antibodies and coagulation mechanisms in the
accelerated or hyperacute rejection of renal homografts in
sensitized canine recipients
Surgery 68, 77 (1970)
- 124 Slapak M., Greenbaum M., Bardawil W., Saravis C.,
Joison J., McDermott W.V.
Effect of heparin, arvin, liver perfusion, and heterologous
antiplateles serum on rejection of pig kidney by dog
Transpl. proc. 3, 558 (1971)
- 125 Snyder G.B., Ballesteros E., Zarco R.M., Linn B.S.
Prolongation of renal xenografts by complement suppression
Surg. For. 17, 478 (1966)
- 126 Spaet T.H., Zucker M.B.
Mechanism of platelet plug formation and role of adenosine
diphosphate
Amer.j.physiol. 206, 1267 (1964)
- 127 Starzl T.E., Marchioro T.L., Peters G.N., Kirkpatrick G.H.
Wilson W.E.C., Porter K.A., Rifkind D., Odgen D.A.,
Hitchcock C.R., Waddell W.R.
Renal heterotransplantation from baboon to man
Transpl. 2, 752 (1964)
- 128 Starzl T.E., Lerner R.A., Dixon F.J., Groth C.G.,
Brettschneider L., Terasaki P.I.
Shwartzman reaction after human renal homotransplantation
New Engl. j. med. 278, 642 (1968)

- 129 Starzl T.E., Boehmig H.J., Amemiya H., Wilson C.B.,
Dixon F.J., Giles G.R., Simpson K.M., Halgrimson C.G.
Clotting changes, including disseminated intravascular coagu-
lation, during rapid renal-homograft rejection
New Engl. j. med. 283, 383 (1970)
- 130 Steyn J., Mobley T.L., Suvanagul A.
Factors influencing extracorporeal hypothermic perfusion of
the isolated canine kidney
Brit. j. urol. 38, 750 (1966)
- 131 Stuart W.E., Wilbrandt R.
Vasomotor effects of adenosine in perfused kidney
In: Organ Perfusion and Presevation, ed. bay J.C.Nor-
man, N.Y. 1968
- 132 Thureau K.
Renal hemodynamics
Amer.j.med. 36, 698 (1964)
- 133 Truninger B., Rosen S.M., Kriek H., Merrill J.P.,
Murray J.E.
Intrarenal distribution of blood flow in the rejection homo-
transplanted dog kidney
Surg.for. 16, 254 (1965)
- 134 Udenfriend S., Weissbach H.
Studies on serotoninine (5-HT) in platelets
Fed. Proc. 13, 412 (1954)
- 135 Vetto R.M., Belzer F.O., Rogers R.C., Park H.Y.
Rapid flow, isolated renal perfusion
J. surg. res. 7, 520 (1967)
- 136 Waksman B.H.
Specific with cell lysis produced by comination of rabbit
antiserum to purified protein with homologous antigen.
The role of non-precipitating antibody
J. immunol. 70, 331 (1953)

- 137 Williams G.M., Lee H.M., Weymouth R.F., Harlan W.R.,
Holden K.R., Stanley C.M., Millington G.A., Hume D.M.
Studies in hyperacute and chronic renal homograft rejection
in man
Surgery 62, 204 (1967)
- 138 Williams G.M., Hume D.M., Hudson R.P., Morris P.J.,
Kano K., Milgrom F.
"Hyperacute" renal homograft rejection in man
New Engl. j. med. 279, 611 (1968)
- 139 Winton F.R.
Hydrostatic pressures affecting the flow of the urine and
blood in the kidney
Harvey Lect. 67, (1951/52)
- 140 Yamazaki H., Murase H., Shimamoto T., Shimamoto T.
Appearance of platelet-clumping substance after acidification
of plasma
Blood 31, 348 (1968)

Ich danke Herrn Prof. Dr. Dr. W. Brendel, daß er mir ermöglichte, am Institut für Chirurgische Forschung zu arbeiten und allen Fragen jederzeit aufgeschlossen und diskussionsbereit gegenüberstand.

Herrn Priv. Doz. Dr. W. Land danke ich für die Einführung in die Thematik und besonders für die intensive Betreuung der theoretischen und praktischen Arbeit.

Fräulein G. Höbel, Fräulein G. Brons und Herrn O. Frisch danke ich für die ausgezeichnete praktische Mitarbeit.

Weiterhin danke ich allen Doktoranden, Assistenten und Dozenten des Institutes, die durch ihr Interesse und ihre Diskussionsbereitschaft zum Gelingen der Arbeit entscheidend beigetragen haben.

Lebenslauf

4.6.1948	geboren als Sohn des Kammersängers Bernd Aldenhoff und seiner Ehefrau Christa, geb. Wiese in Dresden
1954-1958	Besuch der Volksschule in München
1958-1967	Humanistisches Wilhelms-Gymnasium in München
15.7.1967	Reifeprüfung
1967-1973	Medizinstudium an der Universität München
1.4.1970	Ärztliche Vorprüfung
22.6.1973	Staatsexamen

